

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

日 本 国 特 許 庁
PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

J1036 U.S. PTO
09/944175
09/04/01

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されて
いる事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed
with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application:

2000年 9月 4日

出 願 番 号
Application Number:

特願2000-267449

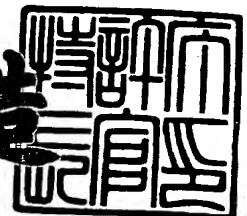
出 願 人
Applicant(s):

富士写真フイルム株式会社

2001年 3月16日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

及川耕造



出証番号 出証特2001-3018783

【書類名】 特許願

【整理番号】 888406

【提出日】 平成12年 9月 4日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 G01N 21/64
G01N 27/447

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県足柄上郡開成町宮台 7 9 8 番地 富士写真フイルム株式会社内

【氏名】 小倉 信彦

【特許出願人】

【識別番号】 000005201

【氏名又は名称】 富士写真フイルム株式会社

【代理人】

【識別番号】 100078031

【氏名又は名称】 大石 皓一

【選任した代理人】

【識別番号】 100099715

【氏名又は名称】 吉田 聡

【選任した代理人】

【識別番号】 100115738

【氏名又は名称】 鷲頭 光宏

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 074148

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

特 2 0 0 0 - 2 6 7 4 4 9

【包括委任状番号】 9907450

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 生化学解析方法および生化学解析装置、それに用いる生化学解析用ユニットならびに生化学解析用ユニットからターゲットを検出するターゲット検出装置

【特許請求の範囲】

【請求項1】 あらかじめ選択されたプローブを基板上に固定するステップと、

ハイブリダイゼーションまたは抗原抗体反応を利用して、前記プローブにターゲットを結合させて、捕捉させるステップと、

前記捕捉されたターゲットを分画するステップと、

前記分画されたターゲットを検出するステップと、

前記検出したターゲットを定量解析するステップと
を備えたことを特徴とする生化学解析方法。

【請求項2】 前記捕捉されたターゲットを電気泳動させて分画することを特徴とする請求項1に記載の生化学解析方法。

【請求項3】 前記捕捉されたターゲットを、前記基板の表面に対して、所定の角度方向に、電気泳動させて分画することを特徴とする請求項2に記載の生化学解析方法。

【請求項4】 前記捕捉されたターゲットを、前記基板に隣接するゲル内で電気泳動させて分画することを特徴とする請求項2または3に記載の生化学解析方法。

【請求項5】 前記捕捉されたターゲットを、前記基板に隣接するゲルのブロック内で電気泳動させて分画することを特徴とする請求項4に記載の生化学解析方法。

【請求項6】 前記捕捉されたターゲットを、前記基板に隣接する複数のキャピラリー内で電気泳動させて分画することを特徴とする請求項2または3に記載の生化学解析方法。

【請求項7】 前記キャピラリー内に、メンブレンまたはゲルが充填されたことを特徴とする請求項6に記載の生化学解析方法。

【請求項 8】 前記プローブを、前記基板上に、滴下して、固定することを特徴とする請求項 1 ないし 7 に記載の生化学解析方法。

【請求項 9】 前記プローブを、前記基板上に、一次元的に滴下して、複数のスポットを形成し、固定することを特徴とする請求項 8 に記載の生化学解析方法。

【請求項 10】 前記プローブを、前記基板上に、二次元的に滴下して、複数のスポットを形成し、固定することを特徴とする請求項 8 に記載の生化学解析方法。

【請求項 11】 前記ターゲットが遺伝子よりなることを特徴とする請求項 1 ないし 10 のいずれか 1 項に記載の生化学解析方法。

【請求項 12】 さらに、前記ターゲットを、蛍光物質によって標識するステップを備えたことを特徴とする請求項 1 ないし 11 のいずれか 1 項に記載の生化学解析方法。

【請求項 13】 前記プローブに結合させるステップに先立って、前記ターゲットを、蛍光物質によって標識することを特徴とする請求項 12 に記載の生化学解析方法。

【請求項 14】 前記ターゲットの分画後に、前記ターゲットを、蛍光物質によって標識することを特徴とする請求項 12 に記載の生化学解析方法。

【請求項 15】 さらに、前記ターゲットを、化学発光基質と接触させることによって化学発光を生じさせる標識物質によって標識するステップを備えたことを特徴とする請求項 1 ないし 11 のいずれか 1 項に記載の生化学解析方法。

【請求項 16】 前記プローブに結合させるステップに先立って、前記ターゲットを、化学発光基質と接触させることによって化学発光を生じさせる標識物質によって標識することを特徴とする請求項 15 に記載の生化学解析方法。

【請求項 17】 前記ターゲットの分画後に、前記ターゲットを、化学発光基質と接触させることによって化学発光を生じさせる標識物質によって標識することを特徴とする請求項 15 に記載の生化学解析方法。

【請求項 18】 前記分画されたターゲットを、二次元的に走査して、検出し、定量的に解析することを特徴とする請求項 9 ないし 17 のいずれか 1 項に記

載の生化学解析方法。

【請求項 1 9】 前記分画されたターゲットを、面検出して、検出し、定量的に解析することを特徴とする請求項 9 ないし 1 7 のいずれか 1 項に記載の生化学解析方法。

【請求項 2 0】 前記分画されたターゲットを、三次元的に走査して、検出し、定量的に解析することを特徴とする請求項 1 0 ないし 1 7 のいずれか 1 項に記載の生化学解析方法。

【請求項 2 1】 前記ターゲットの種類に応じた所定の位置に電気泳動された前記ターゲットを定量して、解析することを特徴とする請求項 2 ないし 2 0 のいずれか 1 項に記載の生化学解析方法。

【請求項 2 2】 電圧を印加可能で、ハイブリダイゼーションまたは抗原抗体反応を利用して、ターゲットが結合されたプローブを深さ方向に電気泳動可能に形成された電気泳動部を備えたことを特徴とする生化学解析用ユニット。

【請求項 2 3】 前記電気泳動部が、ゲルによって構成されたことを特徴とする請求項 2 2 に記載の生化学解析用ユニット。

【請求項 2 4】 前記電気泳動部が、ゲルのブロックによって構成されたことを特徴とする請求項 2 3 に記載の生化学解析用ユニット。

【請求項 2 5】 前記電気泳動部が、複数のキャピラリーを備えたことを特徴とする請求項 2 2 に記載の生化学解析用ユニット。

【請求項 2 6】 前記キャピラリー内に、メンブレンまたはゲルが充填されたことを特徴とする請求項 2 5 に記載の生化学解析用ユニット。

【請求項 2 7】 さらに、少なくとも 1 種類のプローブを、その上に固定可能な基体を備えたことを特徴とする請求項 2 2 ないし 2 6 のいずれか 1 項に記載の生化学解析用ユニット。

【請求項 2 8】 前記基体が、ハイブリダイゼーションまたは抗原抗体反応を利用して、その上に固定された前記少なくとも 1 種類のプローブに、ターゲットを結合可能に構成されたことを特徴とする請求項 2 7 に記載の生化学解析用ユニット。

【請求項 2 9】 前記基体と前記電気泳動部が、前記基体上に固定され、前

記ターゲットが結合された前記少なくとも1種類のプローブが、前記電気泳動部内に電気泳動可能に形成されたことを特徴とする請求項28に記載の生化学解析用ユニット。

【請求項30】 前記基体に、前記電気泳動部と接触する複数のメンブレンのスポットが形成されたことを特徴とする請求項29に記載の生化学解析用ユニット。

【請求項31】 前記複数のメンブレンのスポットが、一次元的に形成されたことを特徴とする請求項30に記載の生化学解析用ユニット。

【請求項32】 前記複数のメンブレンのスポットが、二次元的に形成されたことを特徴とする請求項30に記載の生化学解析用ユニット。

【請求項33】 少なくとも1つのレーザ励起光源と、請求項22ないし32のいずれか1項に記載の生化学解析用ユニットを載置可能なステージと、前記少なくとも1つのレーザ励起光源から発せられたレーザ光により、前記生化学解析用ユニットを二次元的に走査して、前記レーザ光によって、前記生化学解析用ユニットを励起する走査機構と、前記レーザ光によって励起されて、前記生化学解析用ユニットから発せられた光を光電的に検出する光検出器と、前記生化学解析用ユニットから発せられた光を前記光検出器に導く共焦点光学系とを備えたことを特徴とするターゲット検出装置。

【請求項34】 少なくとも1つのレーザ励起光源と、請求項22ないし32のいずれか1項に記載の生化学解析用ユニットを載置可能なステージと、前記少なくとも1つのレーザ励起光源から発せられたレーザ光により、前記生化学解析用ユニットを三次元的に走査して、前記レーザ光によって、前記生化学解析用ユニットを励起する走査機構と、前記レーザ光によって励起されて、前記生化学解析用ユニットから発せられた光を光電的に検出する光検出器と、前記生化学解析用ユニットから発せられた光を前記光検出器に導く共焦点光学系とを備えたことを特徴とするターゲット検出装置。

【請求項35】 前記少なくとも1つのレーザ励起光源が、フェムト秒パルスレーザ励起光源によって構成されたことを特徴とする請求項33または34に記載のターゲット検出装置。

【請求項 3 6】 あらかじめ選択されたプローブを基板上に固定する手段と

ハイブリダイゼーションまたは抗原抗体反応を利用して、前記プローブにターゲットを結合させて、捕捉させる手段と、

前記捕捉されたターゲットを分画する手段と、

前記分画されたターゲットを検出する手段と、

前記検出したターゲットを定量解析する手段と
を備えたことを特徴とする生化学解析装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、生化学解析方法および生化学解析装置、それに用いる生化学解析用ユニットならびに生化学解析用ユニットからターゲットを検出するターゲット検出装置に関するものであり、さらに詳細には、プローブを基体上に固定し、ハイブリダイゼーションまたは抗原抗体反応を利用して、基体上に固定されたプローブに生体由来の物質であるターゲットを結合させて、ターゲットを検出し、定量的に解析をする場合に、構造の類似性などに起因して、目的とするターゲットに加えて、あるいは、目的とするターゲットに代えて、目的とするターゲット以外の生体由来の物質がプローブに結合した場合にも、確実に、ターゲット以外の生体由来の物質を分離して、目的とするターゲットのみを検出して、精度良く、定量的に解析することができる生化学解析方法および生化学解析装置、それに用いる生化学解析用ユニットならびに生化学解析用ユニットに担持されたターゲットを検出することができるターゲット検出装置に関するものである。

【0002】

【従来の技術】

放射線が照射されると、放射線のエネルギーを吸収して、蓄積、記録し、その後、特定の波長域の電磁波を用いて励起すると、照射された放射線のエネルギーの量に応じた光量の輝尽光を発する特性を有する輝尽性蛍光体を、放射線の検出材料として用い、放射性標識を付与した物質を、生物体に投与した後、その生

物体あるいはその生物体の組織の一部を試料とし、この試料を、輝尽性蛍光体層が設けられた蓄積性蛍光体シートと一定時間重ね合わせることで、放射線エネルギーを輝尽性蛍光体に、蓄積、記録し、しかる後に、電磁波によって、輝尽性蛍光体層を走査して、輝尽性蛍光体を励起し、輝尽性蛍光体から放出された輝尽光を光電的に検出して、デジタル画像信号を生成し、画像処理を施して、CRTなどの表示手段上あるいは写真フィルムなどの記録材料上に、画像を再生するように構成されたオートラジオグラフィ画像検出システムが知られている（たとえば、特公平1-60784号公報、特公平1-60782号公報、特公平4-3952号公報など）。

【0003】

蓄積性蛍光体シートを画像の検出材料として使用するオートラジオグラフィ画像検出システムは、写真フィルムを用いる場合とは異なり、現像処理という化学的処理が不必要であるだけでなく、得られた画像データに画像処理を施すことにより、所望のように、画像を再生し、あるいは、コンピュータによる定量解析が可能になるという利点を有している。

【0004】

他方、オートラジオグラフィ画像検出システムにおける放射性標識物質に代えて、蛍光物質を標識物質として使用した蛍光 (fluorescence) 画像検出システムが知られている。このシステムによれば、蛍光画像の読み取ることで、遺伝子配列、遺伝子の発現レベル、蛋白質の分離、同定、あるいは、分子量、特性の評価などをおこなうことができ、たとえば、電気泳動させるべき複数のDNA断片を含む溶液中に、蛍光色素を加えた後に、複数のDNA断片をゲル支持体上で電気泳動させ、あるいは、蛍光色素を含有させたゲル支持体上で、複数のDNA断片を電気泳動させ、あるいは、複数のDNA断片を、ゲル支持体上で、電気泳動させた後に、ゲル支持体を蛍光色素を含んだ溶液に浸すなどして、電気泳動されたDNA断片を標識し、励起光によって、蛍光色素を励起して、生じた蛍光を検出することによって、画像を生成し、ゲル支持体上のDNAを分布を検出したり、あるいは、複数のDNA断片を、ゲル支持体上で、電気泳動させた後に、DNAを変性 (denaturation) し、次いで、サザン・ブロッティング法により、ニ

トロセルロースなどの転写支持体上に、変性DNA断片の少なくとも一部を転写し、目的とするDNAと相補的なDNAもしくはRNAを蛍光色素で標識して調製したプローブと変性DNA断片とをハイブリダイズさせ、プローブDNAもしくはプローブRNAと相補的なDNA断片のみを選択的に標識し、励起光によって、蛍光色素を励起して、生じた蛍光を検出することにより、画像を生成し、転写支持体上の目的とするDNAを分布を検出したりすることができる。さらに、標識物質により標識した目的とする遺伝子を含むDNAと相補的なDNAプローブを調製して、転写支持体上のDNAとハイブリダイズさせ、酵素を、標識物質により標識された相補的なDNAと結合させた後、蛍光基質と接触させて、蛍光基質を蛍光を発する蛍光物質に変化させ、励起光によって、生成された蛍光物質を励起して、生じた蛍光を検出することによって、画像を生成し、転写支持体上の目的とするDNAの分布を検出したりすることもできる。この蛍光画像検出システムは、放射性物質を使用することなく、簡易に、遺伝子配列などを検出することができるという利点がある。

【 0 0 0 5 】

さらに、近年、スライドガラス板やメンブレンフィルタなどの担体表面上の異なる位置に、ホルモン類、腫瘍マーカー、酵素、抗体、抗原、アプザイム、その他のタンパク質、核酸、cDNA、DNA、RNAなど、生体由来の物質と特異的に結合可能で、かつ、塩基配列や塩基の長さ、組成などが既知の特異的結合物質であるプローブを、スポッター装置を用いて、滴下して、多数の独立したスポットを形成し、次いで、ホルモン類、腫瘍マーカー、酵素、抗体、抗原、アプザイム、その他のタンパク質、核酸、cDNA、DNA、mRNAなど、抽出、単離などによって、生体から採取され、あるいは、さらに、化学的处理、化学修飾などの処理が施された生体由来の物質であって、蛍光物質、色素などの標識物質によって標識されたターゲットをハイブリダイズさせたマイクロアレイに、励起光を照射して、蛍光物質、色素などの標識物質から発せられた蛍光などの光を光電的に検出して、生体由来の物質であるターゲットを解析するマイクロアレイ画像検出システムが開発されている。このマイクロアレイ画像検出システムによれば、スライドガラス板やメンブレンフィルタなどの担体表面上の異なる位置に、

数多くの特異的結合物質であるプローブのスポットを高密度に形成して、標識物質によって標識された生体由来の物質であるターゲットをハイブリダイズさせることによって、短時間に、生体由来の物質を解析することが可能になるという利点がある。

【0006】

また、メンブレンフィルタなどの担体表面上の異なる位置に、ホルモン類、腫瘍マーカー、酵素、抗体、抗原、アプザイム、その他のタンパク質、核酸、cDNA、DNA、RNAなど、生体由来の物質と特異的に結合可能で、かつ、塩基配列や塩基の長さ、組成などが既知の特異的結合物質であるプローブを、スポット装置を用いて、滴下して、多数の独立したスポットを形成し、次いで、ホルモン類、腫瘍マーカー、酵素、抗体、抗原、アプザイム、その他のタンパク質、核酸、cDNA、DNA、mRNAなど、抽出、単離などによって、生体から採取され、あるいは、さらに、化学的処理、化学修飾などの処理が施された生体由来の物質であって、放射性標識物質によって標識されたターゲットをハイブリダイズさせたマクロアレイを、輝尽性蛍光体を含む輝尽性蛍光体層が形成された蓄積性蛍光体シートと密着させて、輝尽性蛍光体層を露光し、しかる後に、輝尽性蛍光体層に励起光を照射し、輝尽性蛍光体層から発せられた輝尽光を光電的に検出して、生体由来の物質を解析する放射性標識物質を用いたマクロアレイ画像検出システムも開発されている。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】

このマイクロアレイ画像検出システムにあっては、スライドガラス板やメンブレンフィルタなどの担体表面にスポットされた特異的結合物質であるプローブに、蛍光物質や色素などの標識物質によって標識されたターゲットをハイブリダイズさせて、マイクロアレイを生成したときに、構造の類似性などに起因して、目的とするターゲットに加えて、あるいは、目的とするターゲットに代えて、ターゲット以外の生体由来の物質が結合することがあり、マイクロアレイに、励起光を照射して、蛍光物質や色素などの標識物質から発せられた蛍光などの光を光電的に検出して、生体由来の物質であるターゲットを定量的に解析する場合に、ノ

イズが生成され、解析精度が低下するという問題があった。

【 0 0 0 8 】

したがって、本発明は、プローブを基体上に固定し、ハイブリダイゼーションまたは抗原抗体反応を利用して、基体上に固定されたプローブに生体由来の物質であるターゲットを結合させて、ターゲットを検出し、定量的に解析をする場合に、構造の類似性などに起因して、目的とするターゲットに加えて、あるいは、目的とするターゲットに代えて、目的とするターゲット以外の生体由来の物質がプローブに結合した場合にも、確実に、ターゲット以外の生体由来の物質を分離して、目的とするターゲットのみを検出して、精度良く、定量的に解析することができる生化学解析方法および生化学解析装置、それに用いる生化学解析用ユニットならびに生化学解析用ユニットに担持されたターゲットを検出することができるターゲット検出装置を提供することを目的とするものである。

【 0 0 0 9 】

【課題を解決するための手段】

本発明のかかる目的は、あらかじめ選択されたプローブを基板上に固定するステップと、ハイブリダイゼーションまたは抗原抗体反応を利用して、前記プローブにターゲットを結合させて、捕捉させるステップと、前記捕捉されたターゲットを分画するステップと、前記分画されたターゲットを検出するステップと、前記検出したターゲットを定量解析するステップとを備えたことを特徴とする生化学解析方法によって達成される。

【 0 0 1 0 】

本発明によれば、ハイブリダイゼーションまたは抗原抗体反応を利用して、プローブに捕捉されたターゲットを分画しているので、構造の類似性などに起因して、目的とするターゲットに加えて、あるいは、目的とするターゲットに代えて、目的とするターゲット以外の生体由来の物質がプローブに結合した場合にも、確実に、ターゲット以外の生体由来の物質を分離して、目的とするターゲットのみを検出して、精度良く、定量的に解析することが可能になる。

【 0 0 1 1 】

本発明の好ましい実施態様においては、前記捕捉されたターゲットを電気泳動

させて分画するように構成されている。

【 0 0 1 2 】

本発明の好ましい実施態様によれば、プローブに捕捉されたターゲットを電気泳動させることによって、確実に分画することができ、したがって、構造の類似性などに起因して、目的とするターゲットに加えて、あるいは、目的とするターゲットに代えて、目的とするターゲット以外の生体由来の物質がプローブに結合した場合にも、確実に、ターゲット以外の生体由来の物質を分離して、目的とするターゲットのみを検出して、精度良く、定量的に解析することが可能になる。

【 0 0 1 3 】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記捕捉されたターゲットを、前記基板の表面に対して、所定の角度方向に、電気泳動させて分画するように構成されている。

【 0 0 1 4 】

本発明のさらに好ましい実施態様によれば、プローブに捕捉されたターゲットを、前記基板の表面に対して、所定の角度方向に、電気泳動させることにより、確実に分画することができ、したがって、構造の類似性などに起因して、目的とするターゲットに加えて、あるいは、目的とするターゲットに代えて、目的とするターゲット以外の生体由来の物質がプローブに結合した場合にも、確実に、ターゲット以外の生体由来の物質を分離して、目的とするターゲットのみを検出して、精度良く、定量的に解析することが可能になる。

【 0 0 1 5 】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記捕捉されたターゲットを、前記基板に隣接するゲル内で電気泳動させて分画するように構成されている。

【 0 0 1 6 】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記捕捉されたターゲットを、前記基板に隣接するゲルのブロック内で電気泳動させて分画するように構成されている。

【 0 0 1 7 】

本発明の別の好ましい実施態様においては、前記捕捉されたターゲットを、前

記基板に隣接する複数のキャピラリー内で電気泳動させて分画するように構成されている。

【0018】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記キャピラリー内に、メンブレンまたはゲルが充填されている。

【0019】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記プローブを、前記基板上に、滴下して、固定するように構成されている。

【0020】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記プローブを、前記基板上に、一次元的に滴下して、複数のスポットを形成し、固定するように構成されている。

【0021】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記プローブを、前記基板上に、二次元的に滴下して、複数のスポットを形成し、固定するように構成されている。

【0022】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記ターゲットが遺伝子よりなっている。

【0023】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、生化学解析方法は、さらに、前記ターゲットを、蛍光物質によって標識するステップを備えている。

【0024】

本発明のさらに好ましい実施態様によれば、蛍光物質から放出される蛍光を検出することによって、ターゲットを定量解析することが可能になる。

【0025】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記プローブに結合させるステップに先立って、前記ターゲットを、蛍光物質によって標識するように構成されている。

【 0 0 2 6 】

本発明のさらに別の好ましい実施態様においては、前記ターゲットの分画後に、前記ターゲットを、蛍光物質によって標識するように構成されている。

【 0 0 2 7 】

本発明の別の好ましい実施態様においては、生化学解析方法は、さらに、前記ターゲットを、化学発光基質と接触させることによって化学発光を生じさせる標識物質によって標識するステップを備えている。

【 0 0 2 8 】

本発明の別の好ましい実施態様によれば、化学発光を検出することによって、ターゲットを定量解析することが可能になる。

【 0 0 2 9 】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記プローブに結合させるステップに先立って、前記ターゲットを、化学発光基質と接触させることによって化学発光を生じさせる標識物質によって標識するように構成されている。

【 0 0 3 0 】

本発明のさらに別の好ましい実施態様においては、前記ターゲットの分画後に、前記ターゲットを、化学発光基質と接触させることによって化学発光を生じさせる標識物質によって標識するように構成されている。

【 0 0 3 1 】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記分画されたターゲットを、二次元的に走査して、検出し、定量的に解析するように構成されている。

【 0 0 3 2 】

本発明のさらに別の好ましい実施態様においては、前記分画されたターゲットを、面検出して、検出し、定量的に解析する

本発明のさらに別の好ましい実施態様においては、前記分画されたターゲットを、三次元的に走査して、検出し、定量的に解析するように構成されている。

【 0 0 3 3 】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記ターゲットの種類に応じた所定の位置に電気泳動された前記ターゲットを定量して、解析するように構成さ

れている。

【 0 0 3 4 】

本発明のさらに好ましい実施態様によれば、定量解析すべきターゲットの電気泳動距離は既知であるので、ターゲットの種類に応じた所定の位置に電気泳動されたターゲットを定量することによって、所望のように、定量解析を実行することが可能になる。

【 0 0 3 5 】

本発明の前記目的はまた、電圧を印加可能で、ハイブリダイゼーションまたは抗原抗体反応を利用して、ターゲットが結合されたプローブを深さ方向に電気泳動可能に形成された電気泳動部を備えたことを特徴とする生化学解析用ユニットによって達成される。

【 0 0 3 6 】

本発明によれば、電気泳動部が、電圧を印加可能で、ハイブリダイゼーションまたは抗原抗体反応を利用して、ターゲットが結合されたプローブを深さ方向に電気泳動可能に形成されているので、構造の類似性などに起因して、目的とするターゲットに加えて、あるいは、目的とするターゲットに代えて、目的とするターゲット以外の生体由来の物質がプローブに結合した場合にも、電気泳動部に電圧を印加して、ターゲットが結合されたプローブを深さ方向に電気泳動させることによって、確実に、ターゲット以外の生体由来の物質を分離して、目的とするターゲットのみを検出して、精度良く、定量的に解析することが可能になる。

【 0 0 3 7 】

本発明の好ましい実施態様においては、前記電気泳動部が、ゲルによって構成されている。

【 0 0 3 8 】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記電気泳動部が、ゲルのブロックによって構成されている。

【 0 0 3 9 】

本発明のさらに別の好ましい実施態様においては、前記電気泳動部が、複数のキャピラリーを備えている。

【 0 0 4 0 】

本発明のさらに別の好ましい実施態様によれば、構造の類似性などに起因して、目的とするターゲットに加えて、あるいは、目的とするターゲットに代えて、目的とするターゲット以外の生体由来の物質がプローブに結合した場合にも、電気泳動部に電圧を印加して、ターゲットが結合されたプローブを、複数のキャピラリー内で電気泳動させることによって、確実に、ターゲット以外の生体由来の物質を分離して、目的とするターゲットのみを検出して、精度良く、定量的に解析することが可能になる。

【 0 0 4 1 】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記キャピラリー内に、メンブレンまたはゲルが充填されている。

【 0 0 4 2 】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、生化学解析用ユニットは、さらに、少なくとも1種類のプローブを、その上に固定可能な基体を備えている。

【 0 0 4 3 】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記基体が、ハイブリダイゼーションまたは抗原抗体反応を利用して、その上に固定された前記少なくとも1種類のプローブに、ターゲットを結合可能に構成されている。

【 0 0 4 4 】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記基体と前記電気泳動部が、前記基体上に固定され、前記ターゲットが結合された前記少なくとも1種類のプローブが、前記電気泳動部内に電気泳動可能に形成されている。

【 0 0 4 5 】

本発明のさらに好ましい実施態様によれば、基体と電気泳動部が、基体上に固定され、ターゲットが結合された少なくとも1種類のプローブが、電気泳動部内に電気泳動可能に形成されているから、ターゲットが結合されたプローブを、電気泳動部に転写することなく、電気泳動部に電圧を印加して、ターゲットが結合されたプローブを、深さ方向に電気泳動させることによって、構造の類似性などに起因して、目的とするターゲットに加えて、あるいは、目的とするターゲット

に代えて、目的とするターゲット以外の生体由来の物質がプローブに結合した場合にも、確実に、ターゲット以外の生体由来の物質を分離して、目的とするターゲットのみを検出して、精度良く、定量的に解析することが可能になる。

【 0 0 4 6 】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記基体に、前記電気泳動部と接触する複数のメンブレンのスポットが形成されている。

【 0 0 4 7 】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記複数のメンブレンのスポットが、一次元的に形成されている。

【 0 0 4 8 】

本発明のさらに別の好ましい実施態様においては、前記複数のメンブレンのスポットが、二次元的に形成されている。

【 0 0 4 9 】

本発明の前記目的はまた、少なくとも1つのレーザ励起光源と、生化学解析用ユニットを載置可能なステージと、前記少なくとも1つのレーザ励起光源から発せられたレーザ光により、前記生化学解析用ユニットを三次元的に走査して、前記レーザ光によって、前記生化学解析用ユニットを励起する走査機構と、前記レーザ光によって励起されて、前記生化学解析用ユニットから発せられた光を光電的に検出する光検出器と、前記生化学解析用ユニットから発せられた光を前記光検出器に導く共焦点光学系とを備えたターゲット検出装置によって達成される。

【 0 0 5 0 】

本発明によれば、レーザ励起光源から発せられたレーザ光により、前記生化学解析用ユニットを三次元的に走査して、生化学解析用ユニットから発せられた光を、共焦点光学系を用いて、光検出器に導いているから、二次元的にスポットされたプローブによって捕捉され、電気泳動部内で、電気泳動された結果、電気泳動部内に二次元的に分布しているターゲットから発せられた光のみを光検出器に導いて、光電的に検出し、高いS/N比で、ターゲットを検出することが可能となる。

【 0 0 5 1 】

本発明の前記目的はまた、少なくとも1つのレーザ励起光源と、生化学解析用ユニットを載置可能なステージと、前記少なくとも1つのレーザ励起光源から発せられたレーザ光により、前記生化学解析用ユニットを二次元的に走査して、前記レーザ光によって、前記生化学解析用ユニットを励起する走査機構と、前記レーザ光によって励起されて、前記生化学解析用ユニットから発せられた光を光電的に検出する光検出器と、前記生化学解析用ユニットから発せられた光を前記光検出器に導く共焦点光学系とを備えたターゲット検出装置によって達成される。

【 0 0 5 2 】

本発明によれば、レーザ励起光源から発せられたレーザ光により、前記生化学解析用ユニットを二次元的に走査して、生化学解析用ユニットから発せられた光を、共焦点光学系を用いて、光検出器に導いているから、一次元的にスポットされたプローブによって捕捉され、電気泳動部内で、電気泳動された結果、電気泳動部内に二次元的に分布しているターゲットから発せられた光のみを光検出器に導いて、光電的に検出し、高いS/N比で、ターゲットを検出することが可能となる。

【 0 0 5 3 】

本発明の好ましい実施態様においては、前記少なくとも1つのレーザ励起光源が、フェムト秒パルスレーザ励起光源によって構成されている。

【 0 0 5 4 】

本発明の好ましい実施態様によれば、さらに、少なくとも1つのレーザ励起光源として、フェムト秒パルスレーザ励起光源が用いられ、二光子励起現象を利用して、蛍光物質などの標識物質を励起するように構成されているから、ゲルブロック内あるいはキャピラリー内でのレーザ光の吸収や散乱による減衰が小さく、ゲルブロック内あるいはキャピラリー内のより深い部分に位置しているなどの標識物質蛍光物質を効果的に励起することができる。

【 0 0 5 5 】

また、一般に、励起された蛍光物質分子のエネルギーが溶存酸素の衝突で奪われ、活性酸素が発生して、蛍光物質や試料が損傷されるという問題が生ずることが知られているが、一光子励起の場合には、かかる現象が、試料全体で生じ、ゲ

ルブロック内あるいはキャピラリー内の浅い部分の位置している蛍光物質から順次、深い部分に位置している蛍光物質を励起するときは、ゲルブロック内あるいはキャピラリー内のより深い部分に位置している蛍光物質を励起する際には、蛍光物質の損傷が蓄積し、所望のように、蛍光物質を励起することが困難になることがあるが、本発明の好ましい実施態様によれば、二光子励起を利用して、ゲルブロック内あるいはキャピラリー内に位置している蛍光物質を励起しているため、上述の現象は、焦点近傍において、限定的に生ずるにすぎず、したがって、ゲルブロック内あるいはキャピラリー内の浅い部分の位置している蛍光物質から順次、深い部分に位置している蛍光物質を励起するときにも、ゲルブロック内あるいはキャピラリー内のより深い部分に位置している蛍光物質を、所望のように、励起することが可能になる。

【0056】

本発明の前記目的はまた、あらかじめ選択されたプローブを基板上に固定する手段と、ハイブリダイゼーションまたは抗原抗体反応を利用して、前記プローブにターゲットを結合させて、捕捉させる手段と、前記捕捉されたターゲットを分画する手段と、前記分画されたターゲットを検出する手段と、前記検出したターゲットを定量解析する手段とを備えたことを特徴とする生化学解析装置によって達成される。

【0057】

本発明によれば、生化学解析装置は、ハイブリダイゼーションまたは抗原抗体反応を利用して、プローブに捕捉されたターゲットを分画する手段を備えているので、構造の類似性などに起因して、目的とするターゲットに加えて、あるいは、目的とするターゲットに代えて、目的とするターゲット以外の生体由来の物質がプローブに結合した場合にも、確実に、ターゲット以外の生体由来の物質を分離して、目的とするターゲットのみを検出して、精度良く、定量的に解析することが可能になる。

【0058】

【発明の実施の形態】

以下、添付図面に基づいて、本発明の好ましい実施態様につき、詳細に説明を

加える。

【0059】

図1は、本発明の好ましい実施態様にかかる生化学解析装置を構成する画像読み取り装置の略斜視図である。

【0060】

図1に示されるように、本実施態様にかかる生化学解析装置を構成する画像読み取り装置は、640nmの波長のレーザ光4を発する第1のレーザ励起光源1と、532nmの波長のレーザ光4を発する第2のレーザ励起光源2と、473nmの波長のレーザ光4を発する第3のレーザ励起光源3とを備えている。本実施態様においては、第1のレーザ励起光源は、半導体レーザ光源によって構成され、第2のレーザ励起光源2および第3のレーザ励起光源3は、第二高調波生成(Second Harmonic Generation)素子によって構成されている。

【0061】

第1のレーザ励起光源1により発生されたレーザ光4は、コリメータレンズ5により、平行光とされた後、ミラー6によって反射される。第1のレーザ励起光源1から発せられ、ミラー6によって反射されたレーザ光4の光路には、640nmのレーザ光4を透過し、532nmの波長の光を反射する第1のダイクロイックミラー7および532nm以上の波長の光を透過し、473nmの波長の光を反射する第2のダイクロイックミラー8が設けられており、第1のレーザ励起光源1により発生されたレーザ光4は、第1のダイクロイックミラー7および第2のダイクロイックミラー8を透過して、光学ヘッド15に入射する。

【0062】

他方、第2のレーザ励起光源2より発生されたレーザ光4は、コリメータレンズ9により、平行光とされた後、第1のダイクロイックミラー7によって反射されて、その向きが90度変えられて、第2のダイクロイックミラー8を透過し、光学ヘッド15に入射する。

【0063】

また、第3のレーザ励起光源3から発生されたレーザ光4は、コリメータレンズ10によって、平行光とされた後、第2のダイクロイックミラー8により反射

されて、その向きが90度変えられた後、光学ヘッド15に入射する。

【0064】

光学ヘッド15は、ミラー16と、その中央部に穴17が形成された穴開きミラー18と、レンズ19を備えており、光学ヘッド15に入射したレーザ光4は、ミラー16によって反射され、穴開きミラー18に形成された穴17およびレンズ19を通過して、ステージ20にセットされた生化学解析用ユニット21に入射する。

【0065】

ステージ20は、走査機構（図示せず）によって、図1において、X-Y方向に移動可能に構成され、一方、光学ヘッド15は、図1において、Z方向に移動可能に構成されている。

【0066】

本実施態様にかかる画像読み取り装置は、DNAマイクロアレイに担持された蛍光色素のマイクロアレイ画像、ゲル支持体あるいは転写支持体などに記録された蛍光色素の電気泳動画像および蓄積性蛍光体シートに設けられた輝尽性蛍光体層に記録された放射性標識物質の位置情報に関するオートラジオグラフィ画像を読み取り可能に構成されており、生化学解析用ユニット21として、3種類の生化学解析用ユニット21が用意されている。

【0067】

図1には、生化学解析用ユニット21が、蛍光色素の電気泳動画像を担持したゲル支持体あるいは転写支持体あるいは放射性標識物質の位置情報に関するオートラジオグラフィ画像を担持した蓄積性蛍光体シートの場合が図示されている。

【0068】

図2は、本実施態様にかかるマイクロアレイ画像を担持した生化学解析用ユニット21の略斜視図である。

【0069】

図2に示されるように、蛍光色素のマイクロアレイ画像を担持している生化学解析用ユニット21は、直流電源22に接続された直方体状のゲルブロック23を備え、負極に接続されたゲルブロック23の面には、DNAマイクロアレイ2

4 が密着するように、載置されている。

【0070】

DNA マイクロアレイ 24 は、たとえば、以下のようにして、生成される。

【0071】

まず、スライドガラス板の表面を、ポリ-L-リジン溶液などによって、前処理し、次いで、スライドガラス板の表面上の所定の位置に、塩基配列が既知の互いに異なった複数の特異的結合物質である cDNA を、スポッター装置を使用して、滴下する。

【0072】

他方、検体である mRNA を生体細胞から抽出し、さらに、mRNA から 3' 末端にポリ A を有する RNA を抽出する。こうして抽出したポリ A を末端に有する RNA から cDNA を合成する際に、標識物質である Cy-5 (登録商標) を存在させて、Cy-5 によって標識されたプローブ DNA を生成する。

【0073】

こうして得た Cy-5 によって標識されたプローブ DNA を所定の溶液に調整し、特異的結合物質である cDNA が滴下されたスライドガラスの表面上に静かに載せて、ハイブリダイズさせる。図 3 は、こうして得られた DNA マイクロアレイ 24 の略斜視図であり、図 3 において、25 は、滴下された cDNA のスポットを示している。

【0074】

こうして生成された DNA マイクロアレイ 24 にあっては、構造的な類似性などに起因して、滴下された特異的結合物質である cDNA と結合されるべきではないプローブ DNA が、cDNA に結合されるべきプローブ DNA に代えて、あるいは、cDNA に結合されるべきプローブ DNA に加えて、cDNA に結合されることがある。

【0075】

ここに、Cy-5 によって標識され、特異的結合物質である cDNA と結合されたプローブ DNA の数が多いほど、レーザ光 4 によって励起されたときに、スポット 26 から発せられる蛍光の強度が大きくなるから、結合されるべきではな

いプローブDNAが、cDNAに結合されるべきプローブDNAに代えて、あるいは、cDNAに結合されるべきプローブDNAに加えて、cDNAに結合されている場合には、これらは、DNAマイクロアレイ24をレーザ光4によって走査し、発せられた蛍光を光電検出して得られた画像においてはノイズとなり、生成された画像に基づく解析の精度を低下させることになる。

【0076】

そこで、本実施態様においては、負極に接続されたゲルブロック23の面に、スポット26が形成されたDNAマイクロアレイ24を密着させて、生化学解析用ユニット21を形成し、ゲルブロック23に電圧を印加することによって、スポット26に含まれたcDNAとDNAプローブの結合体を、ゲルブロック23内で電気泳動させて、他のスポット26と分画し、電気泳動されたcDNAとDNAプローブの結合体をレーザ光4によって励起し、発せられた蛍光を光電検出して、画像を生成し、得られた画像に基づいて、解析を実行するように構成されている。

【0077】

すなわち、cDNAのスポット26が形成され、スポット26に、Cy-5によって標識されたプローブDNAがハイブリダイズされたDNAマイクロアレイ24を、スポット26が形成された面が、直流電源22の陰極に接続されたゲルブロック23の側面に密着するように、載置され、ゲルブロック23を横切るように、電圧が印加される。

【0078】

その結果、cDNAとDNAプローブの結合体が、ゲルブロック23内で電気泳動されて、ゲルブロック23の深さ方向に移動し、分子量に応じて、ゲルブロック23内に三次元的に分布され、他のスポット26と分画される。

【0079】

したがって、あらかじめ、実験的に、各物質をゲルブロック23内で電気泳動させ、各物質の電気泳動後の三次元的分布を求めて、基準データを生成しておけば、cDNAとDNAプローブの結合体を電気泳動させた結果と、基準データとを対比することによって、結合されるべきではないプローブDNAが、cDNA

に結合されるべきプローブDNAに代えて、あるいは、cDNAに結合されるべきプローブDNAに加えて、結合されているcDNAを分離することが可能となり、解析精度を向上させることができる。

【0080】

一方、蛍光色素によって標識された変性DNAの電気泳動画像は、たとえば、次のようにして、転写支持体に記録される。

【0081】

すなわち、まず、目的とする遺伝子からなるDNA断片を含む複数のDNA断片を、ゲル支持媒体上で、電気泳動させることにより、分離展開し、アルカリ処理によって変性 (denaturation) して、一本鎖のDNAとする。

【0082】

次いで、公知のサザン・ブロッティング法により、このゲル支持媒体と転写支持体とを重ね合わせ、転写支持体上に、変性DNA断片の少なくとも一部を転写して、加温処理および紫外線照射によって、固定する。

【0083】

その後、目的とする遺伝子のDNAと相補的なDNAあるいはRNAを蛍光色素で標識して調製したプローブと転写支持体12上の変性DNA断片とを、加温処理によって、ハイブリタイズさせ、二本鎖のDNAの形成 (renaturation) またはDNA・RNA結合体の形成をおこなう。次いで、たとえば、フルオレセイン、ローダミン、Cy-5などの蛍光色素を用いて、それぞれ、目的とする遺伝子のDNAと相補的なDNAあるいはRNAを標識してプローブが調製される。このとき、転写支持体上の変性DNA断片は固定されているので、プローブDNAまたはプローブRNAと相補的なDNA断片のみがハイブリタイズして、蛍光標識プローブを捕獲する。しかる後に、適当な溶液で、ハイブリッドを形成しなかったプローブを洗い流すことにより、転写支持体上では、目的遺伝子を有するDNA断片のみが、蛍光標識が付与されたDNAまたはRNAとハイブリッドを形成し、蛍光標識が付与される。こうして、得られた転写支持体に、蛍光色素により標識された変性DNAの電気泳動画像が記録される。

【0084】

さらに、放射性標識物質の位置情報は、以下のようにして、蓄積性蛍光体シートに形成された輝尽性蛍光体層に記録される。ここに、位置情報とは、試料中における放射性標識物質もしくはその集合体の位置を中心とした各種の情報、たとえば、試料中に存在する放射性標識物質の集合体の存在位置と形状、その位置における放射性標識物質の濃度、分布などからなる情報の一つもしくは任意の組み合わせとして得られる各種の情報を意味するものである。

【0085】

たとえば、サザン・ブロット・ハイブリタイゼーション法を利用した遺伝子中の放射性標識物質の位置情報を、蓄積性蛍光体シートに形成された輝尽性蛍光体層に記録する場合には、まず、目的とする遺伝子からなるDNA断片を含む複数のDNA断片を、ゲル支持媒体上で、電気泳動をおこなうことにより、分離展開し、アルカリ処理により変性 (denaturation) して、一本鎖のDNAとする。

【0086】

次いで、公知のサザン・ブロッティング法によって、このゲル支持媒体とニトロセルロースフィルタなどの転写支持体とを重ね合わせ、転写支持体上に、変性DNA断片の少なくとも一部を転写して、加温処理および紫外線照射により、固定する。

【0087】

さらに、目的とする遺伝子のDNAと相補的なDNAあるいはRNAを放射性標識するなどの方法により調製したプローブと転写支持体上の変性DNA断片とを、加温処理により、ハイブリタイズさせ、二本鎖のDNAの形成 (renaturation) またはDNA・RNA結合体の形成をおこなう。このとき、転写支持体上の変性DNA断片は固定されているので、プローブDNAまたはプローブRNAと相補的なDNA断片のみが、ハイブリタイズして、放射性標識プローブを捕獲する。

【0088】

しかる後に、適当な溶液で、ハイブリッドを形成しなかったプローブを洗い流すことにより、転写支持体上では、目的遺伝子を有するDNA断片のみが、放射性標識が付与されたDNAまたはRNAとハイブリッドを形成し、放射性標識が

付与される。その後、乾燥させた転写支持体と蓄積性蛍光体シートとを、一定時間重ね合わせて、露光操作をおこなうことによって、転写支持体上の放射性標識物質から放出される放射線の少なくとも一部が、蓄積性蛍光体シートに形成された輝尽性蛍光体層に吸収され、試料中の放射性標識物質の位置情報が、画像の形で、輝尽性蛍光体層に蓄積記録される。

【0089】

光学ヘッド15から、レーザ光4が生化学解析用ユニット21に入射すると、レーザ光4によって、蛍光物質が励起されて、蛍光が発せられ、あるいは、輝尽性蛍光体が発せられ、輝尽光が発せられる。

【0090】

生化学解析用ユニット21から発せられた蛍光または輝尽光25は、光学ヘッド15に設けられたレンズ19によって、平行な光にされ、穴開きミラー17によって反射されて、4枚のフィルタ28a、28b、28c、28dを備えたフィルタユニット27のいずれかのフィルタ28a、28b、28c、28dに入射する。

【0091】

フィルタユニット27は、モータ（図示せず）によって、図1において、左右方向に移動可能に構成され、使用されるレーザ励起光源の種類によって、所定のフィルタ28a、28b、28c、28dが、蛍光または輝尽光25の光路に位置するように構成されている。

【0092】

ここに、フィルタ28aは、第1のレーザ励起光源1を用いて、生化学解析用ユニット21に含まれている蛍光物質を励起し、蛍光を読み取るときに使用されるフィルタであり、640nmの波長の光をカットし、640nmよりも波長の長い光を透過する性質を有しており、フィルタ28bは、第2のレーザ励起光源2を用いて、生化学解析用ユニット21に含まれている蛍光色素を励起し、蛍光を読み取るときに使用されるフィルタであり、532nmの波長の光をカットし、532nmよりも波長の長い光を透過する性質を有している。さらに、フィルタ28cは、第3のレーザ励起光源3を用いて、生化学解析用ユニット21に含

まれている蛍光色素を励起し、蛍光を読み取るときに使用されるフィルタであり、473 nmの波長の光をカットし、473 nmよりも波長の長い光を透過する性質を有している。また、フィルタ28dは、生化学解析用ユニット21が蓄積性蛍光体シートである場合に、第1のレーザ励起光源1を用いて、蓄積性蛍光体シートに含まれた輝尽性蛍光体を励起し、輝尽性蛍光体から発せられた輝尽光を読み取るときに使用されるフィルタであり、輝尽性蛍光体から発光される輝尽光の波長域の光のみを透過し、640 nmの波長の光をカットする性質を有している。したがって、使用すべきレーザ励起光源の種類、すなわち、生化学解析用ユニット21が担持しているのが、蛍光画像か放射性標識物質の位置情報の画像か否か、試料を標識している蛍光物質の種類に応じて、これらのフィルタ28a、28b、28c、28dを選択的に使用することにより、ノイズとなる波長域の光をカットすることが可能になる。

【0093】

フィルタユニット27のフィルタ28a、28b、28c、28dを透過して、所定の波長域の光がカットされた後、蛍光25または輝尽光は、ミラー29に入射し、反射されて、レンズ30によって、集光される。

【0094】

本実施態様においては、レンズ19とレンズ30は、共焦点光学系を構成している。このように、共焦点光学系を採用しているのは、ゲルブロック23内で電気泳動されて、三次元的に分布しているcDNAとDNAプローブの結合体のうち、特定の位置に位置しているcDNAとDNAプローブの結合体のみを、レーザ光4により励起し、そのcDNAとDNAプローブの結合体に含まれている蛍光物質から放出された蛍光のみを、高いS/N比で読み取ることができるようにするためである。

【0095】

レンズ30の焦点の位置には、共焦点切り換え部材31が設けられている。

【0096】

図4は、共焦点切り換え部材31の略正面図である。

【0097】

図4に示されるように、共焦点切り換え部材31は、板状をなし、径の異なる3つのピンホール32a、32b、32cが形成されている。最も径の小さいピンホール32aは、ゲルブロック23内に電気泳動されたcDNAとDNAプローブの結合体から放出された蛍光を光電検出して、蛍光画像を読み取る時に、ゲルブロック23から放出された蛍光の光路に配置されるものであり、最も径の大きいピンホール32cは、転写支持体やゲル支持体に担持された蛍光画像を読み取る時に、転写支持体やゲル支持体から放出された蛍光の光路に配置されるものである。また、中間の径を有するピンホール32bは、蓄積性蛍光体シートに形成された輝尽性蛍光体層に記録された放射性標識物質の位置情報に関するオートラジオグラフィ画像を読み取る時に、輝尽性蛍光体層から放出された輝尽光の光路に配置されるものである。

【0098】

このように、レンズ30の焦点の位置に、共焦点切り換え部材31を設け、DNAマイクロアレイ上のcDNAとDNAプローブの結合体をゲルブロック23内に電気泳動させ、電気泳動されたcDNAとDNAプローブの結合体から放出された蛍光を光電検出して、蛍光画像を読み取る時に、最も径の小さいピンホール32aを蛍光の光路に位置させているのは、レーザ光4によって励起されるcDNAとDNAプローブの結合体は、ゲルブロック23内に電気泳動されて、ゲルブロック23の深さ方向の種々の位置に分布し、ゲルブロック23内の特定の深さに位置する発光点から放出された蛍光を受光することが必要であるため、共焦点光学系を用いて、径の小さいピンホール32aに結像させることがS/N比を向上させる上で、必要だからである。

【0099】

これに対して、転写支持体やゲル支持体に担持された蛍光画像を読み取る時に、最も径の大きいピンホール32cを蛍光の光路に位置させているのは、レーザ光4によって、蛍光物質を励起して、転写支持体やゲル支持体に担持された蛍光画像を読み取る時は、蛍光物質は転写支持体やゲル支持体の表面から、ある程度、深い部分にまで分布しており、しかも、発光点が深さ方向に変動するので、共焦点光学系によって、径の小さいピンホールに結像させることができず、径

の小さいピンホールを用いると、試料から放出された蛍光がカットされ、蛍光を光電的に検出したときに、十分な信号強度が得られないため、径の大きいピンホール 32c を用いる必要があるからである。

【0100】

他方、蓄積性蛍光体シートに形成された輝尽性蛍光体層に記録された放射性標識物質の位置情報に関するオートラジオグラフィ画像を読み取るときに、中間の径を有するピンホール 32b を輝尽光の光路に位置させているのは、レーザ光 4 によって、輝尽性蛍光体層に含まれた輝尽性蛍光体を励起して、オートラジオグラフィ画像を読み取るときは、輝尽光の発光点は輝尽性蛍光体層の深さ方向に分布し、発光点は深さ方向に変動するので、共焦点光学系によって、径の小さいピンホールに結像させることができず、径の小さいピンホールを用いると、試料から放出された輝尽光がカットされ、輝尽光を光電的に検出したときに、十分な信号強度が得られないが、発光点の深さ方向における分布も、発光点の深さ方向の変動も、転写支持体やゲル支持体に担持された蛍光画像を読み取るときほどではないため、中間の径を有するピンホール 32b を用いることが望ましいからである。

【0101】

共焦点切り換え部材 31 を通過した蛍光あるいは輝尽光は、フォトマルチプライア 33 によって光電的に検出され、アナログ画像データが生成される。フォトマルチプライア 33 によって生成されたアナログ画像データは A/D 変換器 34 によって、デジタル画像データに変換され、画像データ処理装置 35 に送られる。

【0102】

図 5 は、本発明の好ましい実施態様にかかる生化学解析装置を構成する画像読み取り装置の検出系、駆動系、入力系および制御系を示すブロックダイアグラムである。

【0103】

図 5 に示されるように、画像読み取り装置の検出系は、ステージ 20 にセットされた生化学解析用ユニット 21 を把持するホルダーの種類を検出するホルダー

センサ 4 0 を備え、画像読み取り装置の駆動系は、フィルタユニット 2 7 を移動させるフィルタユニットモータ 4 1 と、共焦点切り換え部材 3 1 を移動させる切り換え部材モータ 4 2 を備えている。

【 0 1 0 4 】

また、画像読み取り装置の入力系は、キーボード 4 3 を備えており、画像読み取り装置の制御系は、コントロールユニット 4 5 を備えている。

【 0 1 0 5 】

以上のように構成された本実施態様にかかる画像読み取り装置は、以下のようにして、ゲルブロック 2 3 内に電気泳動された c D N A と D N A プローブの結合体から放出された蛍光を光電検出して、蛍光画像を読み取り、デジタル画像データを生成する。

【 0 1 0 6 】

まず、生化学解析用ユニット 2 1 として、c D N A と D N A プローブの結合体が、その内部で電気泳動されて、他のスポット 2 6 と分画され、三次元的に分布しているゲルブロック 2 3 が、ステージ 2 0 にセットされると、ホルダーセンサ 4 0 によって、生化学解析用ユニット 2 1 を把持するホルダー（図示せず）の種類が検出され、ホルダー検出信号がコントロールユニット 4 5 に出力される。

【 0 1 0 7 】

ホルダーセンサ 4 0 からホルダー検出信号を受けると、コントロールユニット 4 5 は、ホルダー検出信号に基づき、切り換え部材モータ 4 2 に駆動信号を出力して、共焦点切り換え部材 3 1 を、最も径の小さいピンホール 3 2 a が光路内に位置するように、移動させる。

【 0 1 0 8 】

次いで、オペレータによって、標識物質である蛍光物質の種類およびスタート信号が、キーボード 4 3 に入力されると、キーボード 4 3 から指示信号がコントロールユニット 4 5 に出力される。

【 0 1 0 9 】

たとえば、蛍光物質の種類として、C y - 5 が入力されると、コントロールユニット 4 5 は、入力された指示信号にしたがって、フィルタユニットモータ 4 1

に駆動信号を出力して、フィルタユニット27を移動させ、640nmの波長の光をカットし、640nmよりも波長の長い光を透過する性質を有するフィルタ28aを光路内に位置させるとともに、第1のレーザ励起光源1に駆動信号を出力して、第1のレーザ励起光源1をオンさせる。

【0110】

第1のレーザ励起光源1から発せられたレーザ光4は、コリメータレンズ5によって、平行な光とされた後、ミラー6によって反射され、第1のダイクロイックミラー7および第2のダイクロイックミラー8を透過して、光学ヘッド15に入射する。

【0111】

光学ヘッド15に入射したレーザ光4は、ミラー16によって反射され、穴開きミラー18に形成された穴17を通過して、レンズ19により、ステージ20にセットされたゲルブロック23内のレンズ19の焦点の位置に集光される。

【0112】

生化学解析用ユニット21として、cDNAとDNAプローブの結合体が、その内部で電気泳動されて、他のスポット26と分画され、三次元的に分布しているゲルブロック23が、ステージ20にセットされたときは、コントロールユニット45は、走査機構（図示せず）によって、ステージ20を、図1において、X、Y、Zの3方向に移動させるように構成されているため、ゲルブロック23内に三次元的に分布しているcDNAとDNAプローブの結合体のうち、レンズ19の焦点に位置しているcDNAとDNAプローブの結合体に、レーザ光4が、次々に照射される。

【0113】

レーザ光4の照射を受けると、プローブDNAを標識している蛍光物質、たとえば、Cy-5が励起され、蛍光が放出される。

【0114】

レンズ19の焦点に位置しているcDNAとDNAプローブの結合体に含まれた蛍光物質から発せられた蛍光は、レンズ19によって、平行な光とされ、穴開きミラー18によって反射され、フィルタユニット27に入射する。

【0115】

フィルタユニット27は、フィルタ28aが光路内に位置するように移動されているため、蛍光はフィルタ28aに入射し、640nmの波長の光がカットされ、640nmよりも波長の長い光のみが透過される。

【0116】

フィルタ28aを透過した蛍光は、ミラー29によって反射され、レンズ30によって、結像される。

【0117】

レーザ光4の照射に先立って、共焦点切り換え部材31が、最も径の小さいピンホール32aが光路内に位置するように移動されているため、蛍光がピンホール32a上に結像され、フォトマルチプライア33によって、光電的に検出されて、アナログ画像データが生成される。

【0118】

このように、共焦点光学系を用いて、ゲルブロック23内に三次元的に分布しているcDNAとDNAプローブの結合体のうち、レンズ19の焦点に位置しているcDNAとDNAプローブの結合体に含まれた蛍光物質から発せられた蛍光をフォトマルチプライア33に導いているので、レンズ19の焦点に位置しているcDNAとDNAプローブの結合体に含まれた蛍光物質から発せられた蛍光のみを、光電的に検出することができ、画像データ中のノイズを最小に抑えることが可能になる。

【0119】

フォトマルチプライア33によって生成されたアナログ画像データはA/D変換器34によって、デジタル画像データに変換され、画像データ処理装置35に送られる。

【0120】

一方、転写支持体やゲル支持体に担持された蛍光画像を読み取るときは、生化学解析用ユニット21として、転写支持体あるいはゲル支持体がステージ20にセットされる。

【0121】

転写支持体あるいはゲル支持体がステージ20にセットされると、ホルダーセンサ40によって、生化学解析用ユニット21を把持するホルダー（図示せず）の種類が検出され、ホルダー検出信号がコントロールユニット45に出力される。

【0122】

ホルダーセンサ40からホルダー検出信号を受けると、コントロールユニット45は、ホルダー検出信号に基づき、切り換え部材モータ42に駆動信号を出力して、共焦点切り換え部材31を、最も径の大きいピンホール32cが光路内に位置するように、移動させる。

【0123】

次いで、オペレータによって、標識物質である蛍光物質の種類およびスタート信号が、キーボード43に入力されると、キーボード43から指示信号がコントロールユニット45に出力される。

【0124】

たとえば、蛍光物質の種類として、フルオロセインが入力されると、コントロールユニット45は、入力された指示信号にしたがって、フィルタユニットモータ41に駆動信号を出力して、フィルタユニット27を移動させ、473nmの波長の光をカットし、473nmよりも波長の長い光を透過する性質を有するフィルタ28cを光路内に位置させるとともに、第3のレーザ励起光源3に駆動信号を出力して、第3のレーザ励起光源3をオンさせる。

【0125】

第3のレーザ励起光源3から発せられたレーザ光4は、コリメータレンズ10によって、平行な光とされた後、第2のダイクロイックミラー8によって反射され、光学ヘッド15に入射する。

【0126】

光学ヘッド15に入射したレーザ光4は、ミラー16によって反射され、穴開きミラー18に形成された穴17を通過して、レンズ19により、ステージ20にセットされた転写支持体あるいはゲル支持体のレンズ19の焦点の位置に集光される。

【 0 1 2 7 】

生化学解析用ユニット 2 1 として、転写支持体あるいはゲル支持体が、ステージ 2 0 にセットされたときは、コントロールユニット 4 5 は、走査機構（図示せず）によって、ステージ 2 0 を、図 1 において、X 方向および Y 方向にのみ移動させるように構成されているため、レーザ光 4 によって、転写支持体あるいはゲル支持体の全面が走査される。

【 0 1 2 8 】

レーザ光 4 の照射を受けると、変性 DNA を標識している蛍光物質、たとえば、フルオロセインが励起され、蛍光が放出される。転写支持体あるいはゲル支持体の場合には、蛍光物質は、転写支持体あるいはゲル支持体の表面から、ある程度、深さ方向に分布しているため、転写支持体あるいはゲル支持体の深さ方向の所定の範囲から、蛍光が発せられ、発光点の深さ方向の位置も変動する。

【 0 1 2 9 】

転写支持体あるいはゲル支持体から発せられた蛍光は、レンズ 1 9 によって、平行な光とされ、穴開きミラー 1 8 によって反射され、フィルタユニット 2 7 に入射する。

【 0 1 3 0 】

フィルタユニット 2 7 は、フィルタ 2 8 c が光路内に位置するように移動されているため、蛍光はフィルタ 2 8 c に入射し、4 7 3 n m の波長の光がカットされ、4 7 3 n m よりも波長の長い光のみが透過される。

【 0 1 3 1 】

フィルタ 2 8 c を透過した蛍光は、ミラー 2 9 によって反射され、レンズ 3 0 によって、集光されるが、蛍光は、転写支持体あるいはゲル支持体の深さ方向の所定の範囲から発せられているため、結像はしない。

【 0 1 3 2 】

レーザ光 4 の照射に先立って、共焦点切り換え部材 3 1 が、最も径の大きいピンホール 3 2 c が光路内に位置するように移動されているため、蛍光は最も径の大きいピンホール 3 2 c を通過して、フォトマルチプライア 3 3 によって、光電的に検出されて、アナログ画像データが生成される。したがって、ゲルブロック

23内に三次元的に分布しているcDNAとDNAプローブの結合体に含まれた蛍光物質から発せられた蛍光を、高いS/N比で、検出するために、共焦点光学系を用いているにもかかわらず、転写支持体あるいはゲル支持体の深さ方向の所定の範囲から発せられた蛍光も高い信号強度で検出することが可能になる。

【0133】

フォトマルチプライア33によって生成されたアナログ画像データはA/D変換器34によって、デジタル画像データに変換され、画像データ処理装置35に送られる。

【0134】

また、蓄積性蛍光体シートに設けられた輝尽性蛍光体層に記録された放射性標識物質の位置情報に関するオートラジオグラフィ画像を読み取る場合には、生化学解析用ユニット21として、蓄積性蛍光体シートがステージ20にセットされる。

【0135】

蓄積性蛍光体シートがステージ20にセットされると、ホルダーセンサ40によって、生化学解析用ユニット21を把持するホルダー（図示せず）の種類が検出され、ホルダー検出信号がコントロールユニット45に出力される。

【0136】

ホルダーセンサ40からホルダー検出信号を受けると、コントロールユニット45は、ホルダー検出信号に基づき、切り換え部材モータ42に駆動信号を出力して、共焦点切り換え部材31を、中間の径を有するピンホール32bが光路内に位置するように、移動させる。

【0137】

同時に、コントロールユニット45は、フィルタユニットモータ41に駆動信号を出力して、フィルタユニット27を移動させ、輝尽性蛍光体から発光される輝尽光の波長域の光のみを透過し、640nmの波長の光をカットする性質フィルタ28dを光路内に位置させる。

【0138】

次いで、オペレータにより、スタート信号が、キーボード43に入力されると

、キーボード43から指示信号がコントロールユニット45に出力され、コントロールユニット45は、第1のレーザ励起光源1に駆動信号を出力して、第1のレーザ励起光源1をオンさせる。

【0139】

第1のレーザ励起光源1から発せられたレーザ光4は、コリメータレンズ5によって、平行な光とされた後、ミラー6によって反射され、第1のダイクロイックミラー7および第2のダイクロイックミラー8を透過して、光学ヘッド15に入射する。

【0140】

光学ヘッド15に入射したレーザ光4は、ミラー16によって反射され、穴開きミラー18に形成された穴17を通過して、レンズ19により、ステージ20にセットされた蓄積性蛍光体シートに形成された輝尽性蛍光体層のレンズ19の焦点の位置集光される。

【0141】

生化学解析用ユニット21として、蓄積性蛍光体シートがステージ20にセットされたときは、コントロールユニット45は、走査機構（図示せず）によって、ステージ20を、図1において、X方向およびY方向にのみ移動させるように構成されているため、レーザ光4によって、蓄積性蛍光体シートに形成された輝尽性蛍光体層の全面が走査される。

【0142】

レーザ光4の照射を受けると、輝尽性蛍光体層に含まれる輝尽性蛍光体が励起され、蓄積している放射線エネルギーが、輝尽光の形で放出される。蓄積性蛍光体シートの場合には、輝尽性蛍光体は輝尽性蛍光体層中に含まれており、ある程度、輝尽性蛍光体層の深さ方向に分布しているため、輝尽性蛍光体層の深さ方向の所定の範囲から、輝尽光が発せられ、発光点の深さ方向の位置も変動する。しかしながら、輝尽性蛍光体層は薄いため、転写支持体やゲル支持体の場合ほど、発光点は深さ方向に分布してはいない。

【0143】

蓄積性蛍光体シートに形成された輝尽性蛍光体層から発せられた輝尽光は、レ

ンズ 1 9 によって、平行な光とされ、穴開きミラー 1 8 によって反射され、フィルタユニット 2 7 に入射する。

【 0 1 4 4 】

フィルタユニット 2 7 は、フィルタ 2 8 d が光路内に位置するように移動されているため、輝尽光はフィルタ 2 8 d に入射し、640nm の波長の光がカットされ、輝尽性蛍光体から発光される輝尽光の波長域の光のみが、フィルタ 2 8 d を透過する。

【 0 1 4 5 】

フィルタ 2 8 d を透過した輝尽光は、ミラー 2 9 により反射され、レンズ 3 0 によって、集光されるが、輝尽光は、蓄積性蛍光体シートに形成された輝尽性蛍光体層の深さ方向の所定の範囲から発せられているため、結像はしない。

【 0 1 4 6 】

レーザ光 4 の照射に先立って、共焦点切り換え部材 3 1 が、中間の径を有するピンホール 3 2 b が光路内に位置するように移動されているため、輝尽光は中間の径を有するピンホール 3 2 b を通過して、フォトマルチプライア 3 3 により、光電的に検出されて、アナログ画像データが生成される。したがって、ゲルブロック 2 3 内に三次元的に分布している cDNA と DNA プローブの結合体に含まれた蛍光物質から発せられた蛍光を、高い S/N 比で、検出するために、共焦点光学系を用いているにもかかわらず、蓄積性蛍光体シートに形成された輝尽性蛍光体層の深さ方向の所定の範囲から発せられた輝尽光も高い信号強度で検出することが可能になる。

【 0 1 4 7 】

フォトマルチプライア 3 3 によって生成されたアナログ画像データは A/D 変換器 3 4 によって、デジタル画像データに変換され、画像データ処理装置 3 5 に送られる。

【 0 1 4 8 】

本実施態様によれば、cDNA のスポット 2 6 が形成され、スポット 2 6 に、Cy-5 によって標識されたプローブ DNA がハイブリダイズされた DNA マイクロアレイ 2 4 を、スポット 2 6 が形成された面が、直流電源 2 2 の陰極に接続

されたゲルブロック 23 の側面に密着するように載置し、ゲルブロック 23 を横切るように、電圧を印加して、電気泳動させ、他のスポット 26 と分画され、ゲルブロック 23 内に三次元的に分布された cDNA と DNA プローブの結合体にレーザ光 4 を照射し、cDNA と DNA プローブの結合体に含まれた蛍光物質から放出された蛍光を検出し、あらかじめ、実験的に、各物質をゲルブロック 23 内で電気泳動させ、各物質の電気泳動後の三次元的分布を求めて生成した基準データと対比しているから、結合されるべきではないプローブ DNA が、cDNA に結合されるべきプローブ DNA に代えて、あるいは、cDNA に結合されるべきプローブ DNA に加えて、結合された cDNA を確実に分離することが可能となり、生成された画像にノイズが生ずることを防止して、解析精度を大幅に向上させることが可能になる。

【0149】

また、本実施態様によれば、レンズ 19 とレンズ 30 は、共焦点光学系を構成しているから、ゲルブロック 23 の内部のレンズ 19 の焦点に位置している cDNA と DNA プローブの結合体に含まれた蛍光物質をレーザ光 4 によって励起した結果、蛍光物質から放出された蛍光のみを確実にフォトマルチプライア 33 の受光面に導くことができ、高い S/N 比で、蛍光画像を読み取ることが可能となる。

【0150】

さらに、本実施態様によれば、レンズ 19 とレンズ 30 とによって、共焦点光学系を構成し、ゲルブロック 23 内に三次元的に分布している cDNA と DNA プローブの結合体に含まれた蛍光物質から発せられた蛍光を検出する際には、径が最も小さいピンホール 32a 上に、蛍光画像を結像させて、フォトマルチプライア 33 によって、光電的に検出しているから、ゲルブロック 23 内に三次元的に分布している cDNA と DNA プローブの結合体に含まれた蛍光物質から発せられた蛍光を、高い S/N 比で、読み取ることが可能になり、他方、ある程度、表面から深さ方向に分布した発光点から発せられる蛍光を光電的に検出して、転写支持体やゲル支持体に担持された蛍光画像を読み取る際には、共焦点切り換え部材 31 が移動されて、最も径が大きいピンホール 32c が光路に配置され、ま

た、転写支持体やゲル支持体ほど、深さ方向に発光点が分布してはいないが、深さ方向のある範囲から発せられる輝尽光を光電的に検出して、蓄積性蛍光体シートに形成された輝尽性蛍光体層に蓄積された放射性標識物質の位置情報に関するオートラジオグラフィ画像を読み取る際には、共焦点切り換え部材 3 1 が移動されて、中間の径を有するピンホール 3 2 b が光路に配置されるから、蛍光あるいは輝尽光がカットされることはなく、信号強度の大きい画像データを生成することが可能になる。

【 0 1 5 1 】

また、本実施態様によれば、ホルダーセンサ 4 0 が設けられ、生化学解析用ユニット 2 1 を支持しているホルダーの種類を検出して、自動的に、共焦点切り換え部材 3 1 を、所望のピンホール 3 2 a、3 2 b、3 2 c を光路内に位置するように移動させているから、オペレータが、誤って、不適切なピンホール 3 2 a、3 2 b、3 2 c を光路内に位置させることを確実に防止することが可能になる。

【 0 1 5 2 】

図 6 は、本発明の別の好ましい実施態様にかかるマイクロアレイ画像用の生化学解析用ユニットの略斜視図である。

【 0 1 5 3 】

図 6 に示されるように、本実施態様にかかる生化学解析用ユニット 5 0 は、ガラスや金属などによって作られたマイクロアレイ 5 1 と、ゲルブロック 5 2 と、直流電源 5 3 とを備え、マイクロアレイ 5 1 には、複数の円形のメンブレン 5 4 がスポット状に形成され、直流電源 5 3 の負極に接続されている。ここに、複数の円形のメンブレン 5 4 は、ゲルブロック 5 2 と接触している。

【 0 1 5 4 】

本実施態様にかかる生化学解析用ユニット 5 0 においては、塩基配列が既知の互いに異なった複数の特異的結合物質である cDNA を、スポッター装置を用いて、マイクロアレイ 5 1 に形成された複数のメンブレン 5 4 上に滴下し、一方、Cy-5 によって標識されたプローブ DNA を所定の溶液に調整し、特異的結合物質である cDNA が滴下されたマイクロアレイ 5 1 の表面上に静かに載せて、ハイブリダイズさせて、マイクロアレイ 5 1 上に、cDNA と DNA プローブの

結合体が形成される。

【0155】

すでに述べたように、このようにして、cDNAとプローブDNAとをハイブリダイズさせたとき、構造的な類似性などに起因して、滴下された特異的結合物質であるcDNAと結合されるべきではないプローブDNAが、cDNAに結合されるべきプローブDNAに代えて、あるいは、cDNAに結合されるべきプローブDNAに加えて、cDNAに結合されることがあり、これらは、DNAマイクロアレイ24をレーザ光4によって走査し、発せられた蛍光を光電検出して得られた画像においてはノイズとなり、生成された画像に基づく解析の精度を低下させることになる。

【0156】

そこで、本実施態様にかかる生化学解析用ユニット50にあっては、ゲルブロック52に電圧を印加することによって、メンブレン54に含まれたcDNAとDNAプローブの結合体を、ゲルブロック52内で電気泳動させて、分画し、電気泳動されたcDNAとDNAプローブの結合体をレーザ光4によって励起し、発せられた蛍光を光電検出して、画像を生成し、得られた画像に基づいて、解析を実行することができるように構成されている。

【0157】

すなわち、直流電源53から、ゲルブロック52を横切るように、電圧を印加すると、メンブレン54に含まれたcDNAとDNAプローブの結合体が、ゲルブロック52内で電気泳動されて、ゲルブロック52の深さ方向に移動し、分子量に応じて、ゲルブロック52内に三次元的に分布される。

【0158】

したがって、あらかじめ、実験的に、各物質をゲルブロック52内で電気泳動させ、各物質の電気泳動後の三次元的分布を求めて、基準データを生成しておけば、cDNAとDNAプローブの結合体を電気泳動させた結果と、基準データとを対比することによって、結合されるべきではないプローブDNAが、cDNAに結合されるべきプローブDNAに代えて、あるいは、cDNAに結合されるべきプローブDNAに加えて、結合されているcDNAを分離することが可能とな

り、解析精度を向上させることができる。

【0159】

図7は、本発明の他の好ましい実施態様にかかるマイクロアレイ画像用の生化学解析用ユニットの略斜視図である。

【0160】

図7に示されるように、本実施態様にかかる生化学解析用ユニット60は、直流電源61に接続され、DNAマイクロアレイ24に形成されたcDNAとDNAプローブの結合体のスポット26に対応する複数の開口部62が形成された負極板63と、一端部に形成された開口部で、陰極板63に形成された開口部62に接続された複数のキャピラリー64（図7においては、便宜上、一部のみが図示されている。）と、複数のキャピラリー64の他端部が取り付けられた正極板65とを備え、キャピラリー64は、透明なガラスあるいはプラスチックによって形成され、キャピラリー64内には、ゲル66が充填されている。

【0161】

本実施態様にかかる生化学解析用ユニット60においては、以下のようにして、結合されるべきではないプローブDNAが、cDNAに結合されるべきプローブDNAに代えて、あるいは、cDNAに結合されるべきプローブDNAに加えて、結合されているcDNAを分離し、生成された画像中のノイズが低減される。

【0162】

cDNAのスポット26が形成され、スポット26に、Cy-5によって標識されたプローブDNAがハイブリダイズされたDNAマイクロアレイ24を、スポット26がキャピラリー64に充填されたゲル66と接触するように、負極板63に重ね合わせ、次いで、直流電源61によって、負極板63と正極板65との間に、電圧が印加される。

【0163】

その結果、cDNAとDNAプローブの結合体が、キャピラリー64内で電気泳動されて、キャピラリー64の長手方向に移動し、分子量に応じて、キャピラリー64の長手方向に分布されて、分画される。

【0164】

したがって、あらかじめ、実験的に、各物質をキャピラリー64内において、電気泳動させ、電気泳動後における各物質のキャピラリー64の長手方向の位置を求め、基準データを生成しておけば、cDNAとDNAプローブの結合体を電気泳動させた結果と、基準データとを対比することによって、結合されるべきではないプローブDNAが、cDNAに結合されるべきプローブDNAに代えて、あるいは、cDNAに結合されるべきプローブDNAに加えて、結合されているcDNAを分離することが可能となり、解析精度を向上させることができる。

【0165】

さらに、本実施態様によれば、cDNAとDNAプローブの結合体は、透明なキャピラリー64内で、電気泳動されるから、ラインCCDなどを用いて、cDNAとDNAプローブの結合体に含まれた蛍光物質から発せられた蛍光を光電検出して、蛍光画像を生成することができる。

【0166】

図8は、本発明の他の好ましい実施態様にかかる生化学解析装置を構成する画像読み取り装置の略斜視図である。

【0167】

図8に示される画像読み取り装置は、生化学解析用ユニット21、50、60に担持された蛍光色素のマイクロアレイ画像を読み取り可能に構成されており、本実施態様にかかる画像読み取り装置においては、640nmの波長のレーザ光4を発する第1のレーザ励起光源1、532nmの波長のレーザ光4を発する第2のレーザ励起光源2および473nmの波長のレーザ光4を発する第3のレーザ励起光源3に代えて、赤外光を発するフェムト秒パルスレーザ励起光源70が設けられており、二光子励起現象を利用して、ゲルブロック23、52内あるいはキャピラリー64内で、電気泳動されて、ゲルブロック23、52の深さ方向あるいはキャピラリー64の長手方向に分布しているcDNAとDNAプローブの結合体を選択的に励起し、蛍光画像を生成可能に構成されている。

【0168】

本実施態様においては、標識物質である蛍光物質として、一光子励起による励

起波長が約 4 0 0 n m で、約 5 0 0 n m の波長の蛍光を放出する蛍光物質が用いられ、フェムト秒パルスレーザ励起光源 7 0 は、8 0 0 n m の波長を有する赤外光を発するように構成されている。したがって、フィルタユニット 2 7 は、8 0 0 n m 以上の波長の光をカットし、8 0 0 n m 未満の波長の光を透過する性質を有するフィルタ 2 8 e のみを有し、取り外し可能に構成されており、また、共焦点切り換え部材 3 1 には、最も径の小さいピンホール 3 2 a のみが形成されている。

【0 1 6 9】

以上のように構成された本実施態様にかかる生化学解析装置を構成する画像読み取り装置は、以下のようにして、ゲルブロック 2 3、5 2 内あるいはキャピラリー 6 4 内で、電気泳動された c D N A と D N A プローブの結合体から放出された蛍光を光電検出して、蛍光画像を読み取り、デジタル画像データを生成する。

【0 1 7 0】

まず、生化学解析用ユニット 2 1 として、c D N A と D N A プローブの結合体が、その内部で電気泳動され、三次元的に分布しているゲルブロック 2 3、5 2 を備えた生化学解析用ユニット 2 1、5 0 あるいは c D N A と D N A プローブの結合体が、その内部で電気泳動され、三次元的に分布している複数のキャピラリー 6 4 を備えた生化学解析用ユニット 6 0 が、ステージ 2 0 にセットされる。

【0 1 7 1】

次いで、オペレータによって、キーボード 4 3 に指示信号が入力されると、コントロールユニット 4 5 はフェムト秒パルスレーザ励起光源 7 0 を起動させて、フェムト秒パルスレーザ励起光源 7 0 から、8 0 0 n m の波長のレーザ光 4 が発せられる。

【0 1 7 2】

フェムト秒パルスレーザ励起光源 7 0 から発せられたレーザ光 4 は、コリメータレンズ 7 1 によって、平行な光とされた後、ミラー 7 2 によって反射され、光学ヘッド 1 5 に入射する。

【0 1 7 3】

光学ヘッド15に入射したレーザ光4は、ミラー16によって反射され、穴開きミラー18に形成された穴17を通過して、レンズ19により、ステージ20にセットされたゲルブロック23、52内あるいはキャピラリー64内のレンズ19の焦点の位置に集光される。

【0174】

コントロールユニット45は、走査機構（図示せず）によって、ステージ20を、図8において、X、Y方向に移動させるように構成され、光学ヘッド15をZ方向に移動させるように構成されているため、ゲルブロック23、52内あるいはキャピラリー64内に三次元的に分布しているcDNAとDNAプローブの結合体のうち、レンズ19の焦点に位置しているcDNAとDNAプローブの結合体に、レーザ光4が、次々に照射される。

【0175】

レーザ光4の照射を受けると、プローブDNAを標識している蛍光物質が励起され、約500nmの波長の蛍光が放出される。

【0176】

本実施態様においては、レーザ励起光源として、フェムト秒パルスレーザ励起光源70が用いられ、二光子励起現象を利用して、蛍光物質を励起するように構成されているので、ゲルブロック23、52内あるいはキャピラリー64内でのレーザ光4の吸収や散乱による減衰が小さく、ゲルブロック23、52内あるいはキャピラリー64内のより深い部分に位置している蛍光物質を効果的に励起することができる。また、一般に、励起された蛍光物質分子のエネルギーが溶存酸素の衝突で奪われ、活性酸素が発生して、蛍光物質や試料が損傷されるという問題が生ずることが知られているが、一光子励起の場合には、かかる現象が、試料全体で生じ、ゲルブロック23、52内あるいはキャピラリー64内の浅い部分の位置している蛍光物質から順次、深い部分に位置している蛍光物質を励起するときは、ゲルブロック23、52内あるいはキャピラリー64内のより深い部分に位置している蛍光物質を励起する際には、蛍光物質の損傷が蓄積し、所望のように、蛍光物質を励起することが困難になることがあるが、二光子励起の場合には、上述の現象は、焦点近傍において、限定的に生ずるにすぎないため、ゲルブ

ロック 23、52 内あるいはキャピラリー 64 内の浅い部分の位置している蛍光物質から順次、深い部分に位置している蛍光物質を励起するときにも、ゲルブロック 23、52 内あるいはキャピラリー 64 内のより深い部分に位置している蛍光物質を、所望のように、励起することが可能になる。

【0177】

レンズ 19 の焦点に位置している cDNA と DNA プローブの結合体に含まれた蛍光物質から発せられた蛍光は、レンズ 19 によって、平行な光とされ、穴開きミラー 18 によって反射され、フィルタユニット 27 のフィルタ 28 e に入射する。

【0178】

ここに、フィルタ 28 e は、800 nm 以上の波長の光をカットし、800 nm 未満の波長の光を透過する性質を有しているため、レーザ光 4 の波長の光がカットされ、800 nm よりも波長の短い蛍光のみが透過される。

【0179】

フィルタ 28 e を透過した蛍光は、ミラー 29 によって反射され、レンズ 30 によって、結像される。

【0180】

その結果、蛍光が、共焦点切り換え部材 31 の径の小さいピンホール 32 a 上に結像され、フォトマルチプライア 33 によって、光電的に検出されて、アナログ画像データが生成される。

【0181】

このように、共焦点光学系を用いて、ゲルブロック 23 内に三次元的に分布している cDNA と DNA プローブの結合体のうち、レンズ 19 の焦点に位置している cDNA と DNA プローブの結合体に含まれた蛍光物質から発せられた蛍光をフォトマルチプライア 33 に導いているので、レンズ 19 の焦点に位置している cDNA と DNA プローブの結合体に含まれた蛍光物質から発せられた蛍光のみを、光電的に検出することができ、画像データ中のノイズを最小に抑えることが可能になる。

【0182】

フォトマルチプライア 3 3 によって生成されたアナログ画像データは A/D 変換器 3 4 によって、デジタル画像データに変換され、画像データ処理装置 3 5 に送られる。

【 0 1 8 3 】

本実施態様によれば、前記実施態様と同様に、結合されるべきではないプローブ DNA が、c DNA に結合されるべきプローブ DNA に代えて、あるいは、c DNA に結合されるべきプローブ DNA に加えて、結合されている c DNA を分離することが可能となり、解析精度を向上させることが可能になる上、さらに、レーザ励起光源として、フェムト秒パルスレーザ励起光源 7 0 が用いられ、二光子励起現象を利用して、蛍光物質を励起するように構成されているから、ゲルブロック 2 3、5 2 内あるいはキャピラリー 6 4 内でのレーザ光 4 の吸収や散乱による減衰が小さく、ゲルブロック 2 3、5 2 内あるいはキャピラリー 6 4 内のより深い部分に位置している蛍光物質を効果的に励起することができる。

【 0 1 8 4 】

また、一般に、励起された蛍光物質分子のエネルギーが溶存酸素の衝突で奪われ、活性酸素が発生して、蛍光物質や試料が損傷されるという問題が生ずることが知られているが、一光子励起の場合には、かかる現象が、試料全体で生じ、ゲルブロック 2 3、5 2 内あるいはキャピラリー 6 4 内の浅い部分の位置している蛍光物質から順次、深い部分に位置している蛍光物質を励起するときは、ゲルブロック 2 3、5 2 内あるいはキャピラリー 6 4 内のより深い部分に位置している蛍光物質を励起する際には、蛍光物質の損傷が蓄積し、所望のように、蛍光物質を励起することが困難になることがあるが、本実施態様によれば、二光子励起を利用して、ゲルブロック 2 3、5 2 内あるいはキャピラリー 6 4 内に位置している蛍光物質を励起しているため、上述の現象は、焦点近傍において、限定的に生ずるにすぎず、したがって、ゲルブロック 2 3、5 2 内あるいはキャピラリー 6 4 内の浅い部分の位置している蛍光物質から順次、深い部分に位置している蛍光物質を励起するときにも、ゲルブロック 2 3、5 2 内あるいはキャピラリー 6 4 内のより深い部分に位置している蛍光物質を、所望のように、励起することが可能になる。

【 0 1 8 5 】

本発明は、以上の実施態様に限定されることなく、特許請求の範囲に記載された発明の範囲内で種々の変更が可能であり、それらも本発明の範囲内に包含されるものであることはいうまでもない。

【 0 1 8 6 】

たとえば、前記実施態様においては、スライドガラス板の表面上の所定の位置あるいはマイクロアレイ 5 1 に形成された複数のメンブレン 5 4 上に、塩基配列が既知の互いに異なった複数の特異的結合物質である cDNA を滴下し、検体である mRNA を生体細胞から抽出し、さらに、mRNA から 3' 末端にポリ A を有する RNA を抽出して、cDNA を合成する際に、標識物質である Cy-5 を存在させて、Cy-5 によって標識されたプローブ DNA を生成し、Cy-5 によって標識されたプローブ DNA を所定の溶液に調整して、特異的結合物質である cDNA が滴下されたスライドガラスの表面上あるいはマイクロアレイ 5 1 上に静かに載せて、ハイブリダイズさせ、マイクロアレイ画像を生成した場合につき、説明を加えたが、本発明はかかるマイクロアレイ画像に限定されるものではなく、ホルモン類、腫瘍マーカー、酵素、抗体、抗原、アプザイム、その他のタンパク質、核酸、cDNA、DNA、RNA など、生体由来の物質と特異的に結合可能で、かつ、塩基配列や塩基の長さ、組成などが既知の特異的結合物質をスライドガラスの表面あるいはマイクロアレイ 5 1 に形成された複数のメンブレン 5 4 上に滴下して、多数の独立したスポットを形成し、次いで、ホルモン類、腫瘍マーカー、酵素、抗体、抗原、アプザイム、その他のタンパク質、核酸、cDNA、DNA、mRNA など、抽出、単離などによって、生体から採取され、あるいは、さらに、化学的处理、化学修飾などの処理が施された生体由来の物質であって、蛍光物質などの標識物質によって標識された物質と、塩基配列や塩基の長さ、組成などが既知の特異的結合物質とをハイブリダイズさせて得たマイクロアレイ画像に広く適用することができる。

【 0 1 8 7 】

さらに、図 6 に示された実施態様においては、マイクロアレイ 5 1 には、複数の円形のメンブレン 5 4 がスポット状に形成されているが、メンブレンに代えて

、ゲルをスポット状に形成することもできる。

【0188】

また、図1ないし図7に示された実施態様においては、生化学解析装置を構成する画像読み取り装置は、蛍光色素のマイクロアレイ画像、ゲル支持体あるいは転写支持体などに記録された蛍光色素の電気泳動画像および蓄積性蛍光体シートに設けられた輝尽性蛍光体層に記録された放射性標識物質の位置情報に関するオートラジオグラフィ画像を読み取り可能に構成されているが、蛍光色素のマイクロアレイ画像の読み取りが可能であればよく、合わせて、ゲル支持体あるいは転写支持体などに記録された蛍光色素の電気泳動画像および蓄積性蛍光体シートに設けられた輝尽性蛍光体層に記録された放射性標識物質の位置情報に関するオートラジオグラフィ画像を読み取り可能に構成されていることは必ずしも必要でない。

【0189】

さらに、図1ないし図7に示された実施態様においては、生化学解析装置を構成する画像読み取り装置は、第1のレーザ励起光源1、第2のレーザ励起光源2および第3のレーザ励起光源3を備えているが、マイクロアレイ画像を生成するのに用いた蛍光物質を効率的に励起することができ、マイクロアレイ画像が読み取り可能に構成されていればよく、3つのレーザ励起光源を備えていることは必ずしも必要ない。

【0190】

また、図1ないし図7に示された実施態様においては、第1のレーザ励起光源1として、640nmの波長のレーザ光4を発する半導体レーザ光源を用いているが、640nmの波長のレーザ光4を発する半導体レーザ光源に代えて、633nmの波長を有するレーザ光4を発するHe-Neレーザ光源あるいは635nmのレーザ光4を発する半導体レーザ光源を用いてもよい。

【0191】

さらに、図1ないし図7に示された実施態様においては、第2のレーザ励起光源2として、532nmのレーザ光を発するレーザ光源を用い、第3のレーザ励起光源3として、473nmのレーザ光を発するレーザ光源を用いているが、励

起する蛍光物質の種類に応じて、第2のレーザ励起光源2として、530ないし540nmのレーザ光を発するレーザ光源を、第3のレーザ励起光源3として、470ないし480nmのレーザ光を発するレーザ光源を、それぞれ、用いることもできる。

【0192】

また、前記実施態様においては、走査機構によって、ステージ20を、生化学解析用ユニット21の種類に応じて、X方向およびY方向に、あるいは、X、YおよびZの3方向に移動させることによって、レーザ光4により、生化学解析用ユニット21に含まれた標識物質を励起しているが、ステージ20を静止状態に維持し、光学ヘッド15を、図1において、X方向およびY方向に、あるいは、X、YおよびZの3方向に移動させるようにしてもよく、光学ヘッド15を、図1において、Z方向にのみ移動させるとともに、ステージ20をX方向およびY方向に移動させて、レーザ光4により、生化学解析用ユニット21に含まれた標識物質を励起するようにしてもよいし、光学ヘッド15を、図1において、X方向およびY方向に移動させるとともに、ステージ20をZ方向に移動させることもできる。

【0193】

さらに、前記実施態様においては、穴17が形成された穴開きミラー18を用いているが、穴17に代えて、レーザ光4を透過可能なコーティングを施すこともできる。

【0194】

また、前記実施態様においては、光検出器として、フォトマルチプライア33あるいはラインCCDを用いて、生化学解析用ユニット21から発せられた蛍光あるいは輝尽光を光電的に検出しているが、本発明において用いられる光検出器としては、蛍光あるいは輝尽光を光電的に検出可能であればよく、フォトマルチプライア33やラインCCDに限らず、二次元CCDなどの他の光検出器を用いることもできる。

【0195】

さらに、図8に示された実施態様においては、ステージ20を、走査機構を用

いて、図8において、X、Y方向に移動させ、光学ヘッド15をZ方向に移動させるように構成されているが、共振型ガルバノミラーを用いて、レーザ光4を、X、Y方向に移動させるとともに、走査機構によって、ステージ20をZ方向に移動させることによって、レーザ光4により、生化学解析用ユニット21、50、60に含まれた標識物質を励起するように構成することもできる。

【0196】

【発明の効果】

本発明によれば、プローブを基体上に固定し、ハイブリダイゼーションまたは抗原抗体反応を利用して、基体上に固定されたプローブに生体由来の物質であるターゲットを結合させて、ターゲットを検出し、定量的に解析をする場合に、構造の類似性などに起因して、目的とするターゲットに加えて、あるいは、目的とするターゲットに代えて、目的とするターゲット以外の生体由来の物質がプローブに結合した場合にも、確実に、ターゲット以外の生体由来の物質を分離して、目的とするターゲットのみを検出して、精度良く、定量的に解析することができる生化学解析方法および生化学解析装置、それに用いる生化学解析用ユニットならびに生化学解析用ユニットに担持されたターゲットを検出することができるターゲット検出装置を提供することが可能になる。

【図面の簡単な説明】

【図1】

図1は、本発明の好ましい実施態様にかかる生化学解析装置を構成する画像読み取り装置の略斜視図である。

【図2】

図2は、本実施態様にかかるマイクロアレイ画像を担持した生化学解析用ユニットの略斜視図である。

【図3】

図3は、DNAマイクロアレイの略斜視図である。

【図4】

図4は、共焦点切り換え部材の略正面図である。

【図5】

図5は、本発明の好ましい実施態様にかかる生化学解析装置を構成する画像読み取り装置の検出系、駆動系、入力系および制御系を示すブロックダイアグラムである。

【図6】

図6は、本発明の別の好ましい実施態様にかかるマイクロアレイ画像用の生化学解析用ユニットの略斜視図である。

【図7】

図7は、本発明の他の好ましい実施態様にかかるマイクロアレイ画像用の生化学解析用ユニットの略斜視図である。

【図8】

図8は、本発明の他の好ましい実施態様にかかる生化学解析装置を構成する画像読み取り装置の略斜視図である。

【符号の説明】

- 1 第1のレーザ励起光源
- 2 第2のレーザ励起光源
- 3 第3のレーザ励起光源
- 4 レーザ光
- 5 コリメータレンズ
- 6 ミラー
- 7 第1のダイクロイックミラー
- 8 第2のダイクロイックミラー
- 9 コリメータレンズ
- 10 コリメータレンズ
- 15 光学ヘッド
- 16 ミラー
- 17 穴
- 18 穴開きミラー
- 19 レンズ
- 20 ステージ

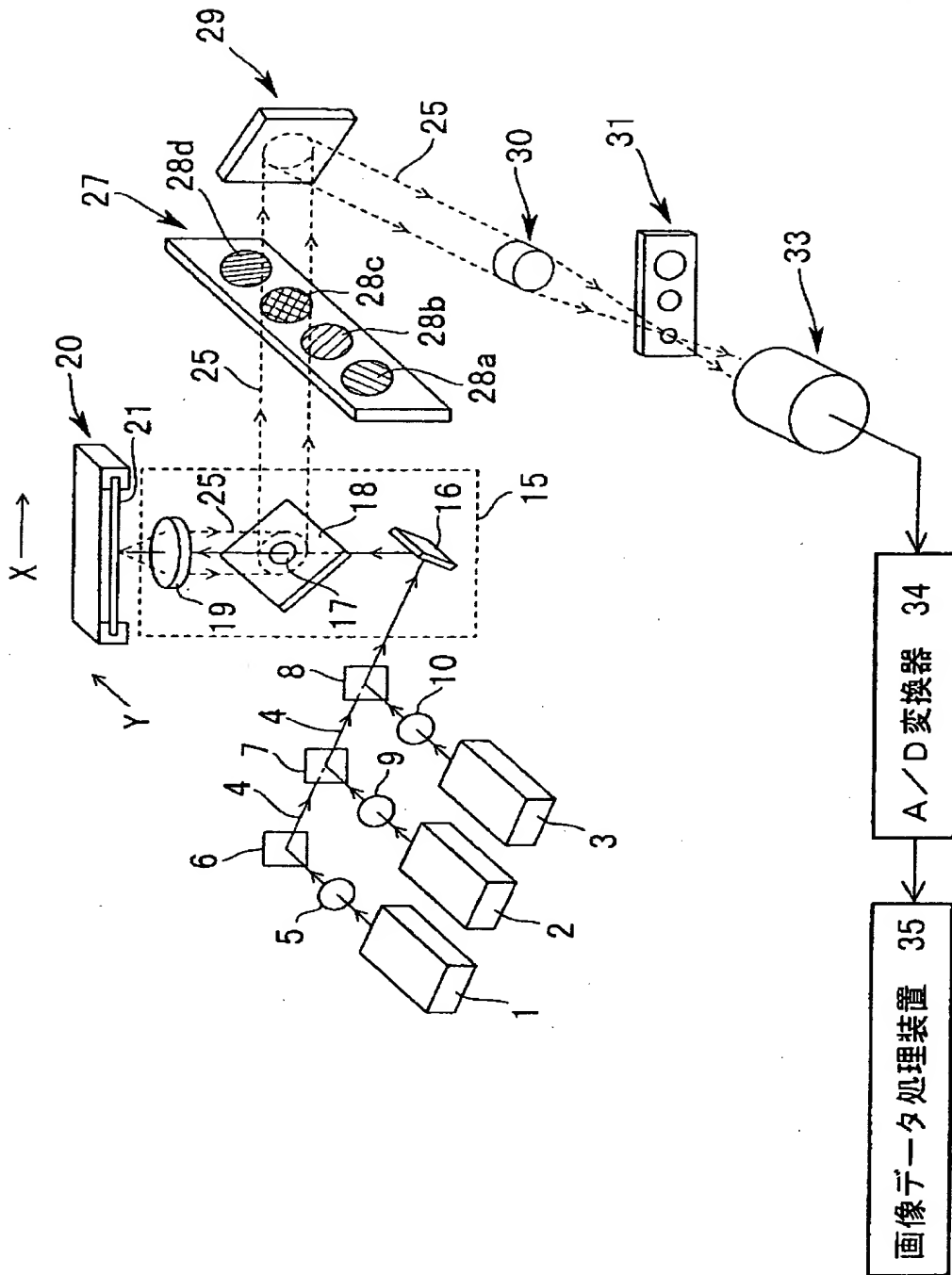
- 2 1 生化学解析用ユニット
- 2 2 直流電源
- 2 3 ゲルブロック
- 2 4 DNAマイクロアレイ
- 2 5 蛍光または輝光
- 2 6 スポット
- 2 7 フィルタユニット
- 2 8 a、2 8 b、2 8 c、2 8 d、2 8 e フィルタ
- 2 9 ミラー
- 3 0 レンズ
- 3 1 共焦点切り換え部材
- 3 2 a、3 2 b、3 2 c、3 2 d、3 2 e ピンホール
- 3 3 フォトマルチプライア
- 3 4 A/D変換器
- 3 5 画像データ処理装置
- 4 0 ホルダーセンサ
- 4 1 フィルタユニットモータ
- 4 2 切り換え部材モータ
- 4 3 キーボード
- 4 5 コントロールユニット
- 5 0 生化学解析用ユニット
- 5 1 アレイ
- 5 2 ゲルブロック
- 5 3 直流電源
- 5 4 メンブレン
- 6 0 生化学解析用ユニット
- 6 1 直流電源
- 6 2 開口部
- 6 3 負極板

- 6 4 キャピラリー
- 6 5 正極板
- 6 6 ゲル
- 7 0 フェムト秒パルスレーザー励起光源
- 7 1 コリメータレンズ
- 7 2 ミラー

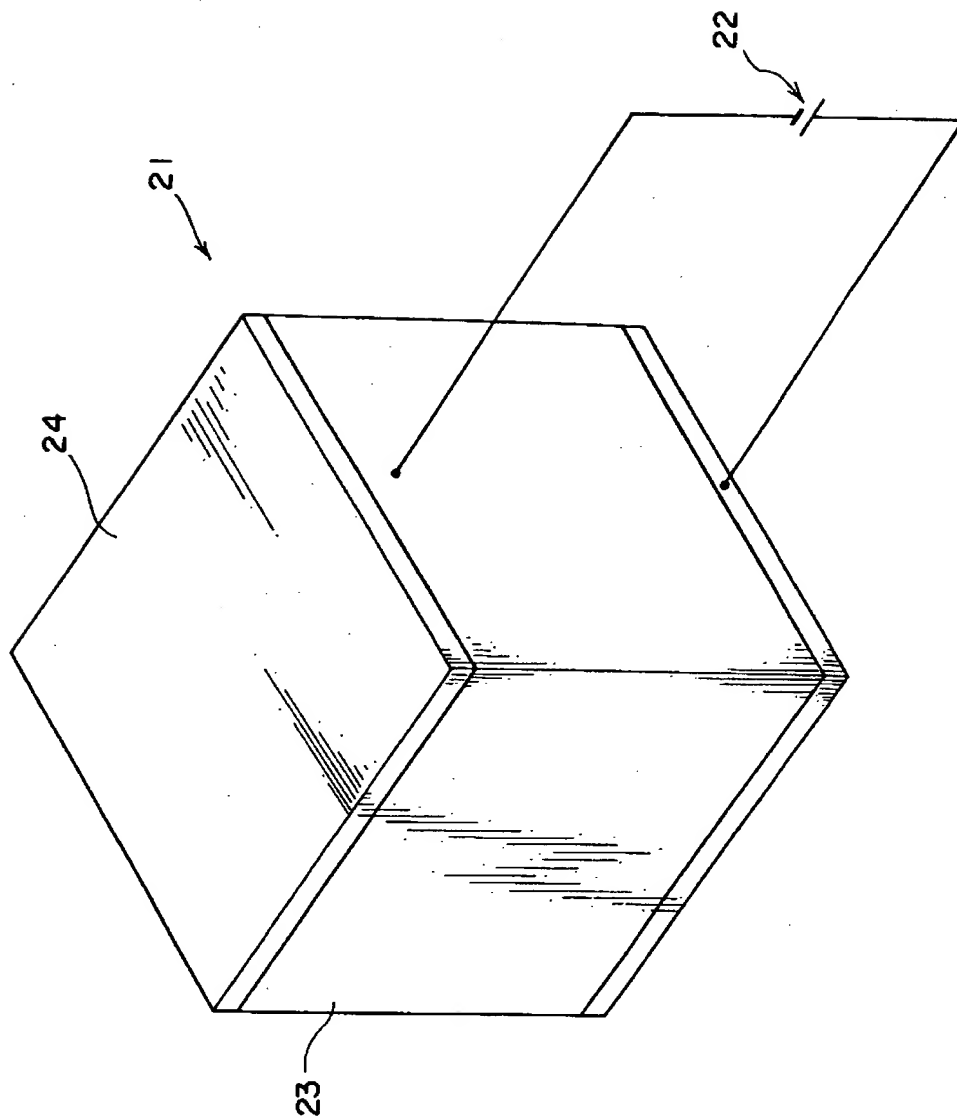
【書類名】

図面

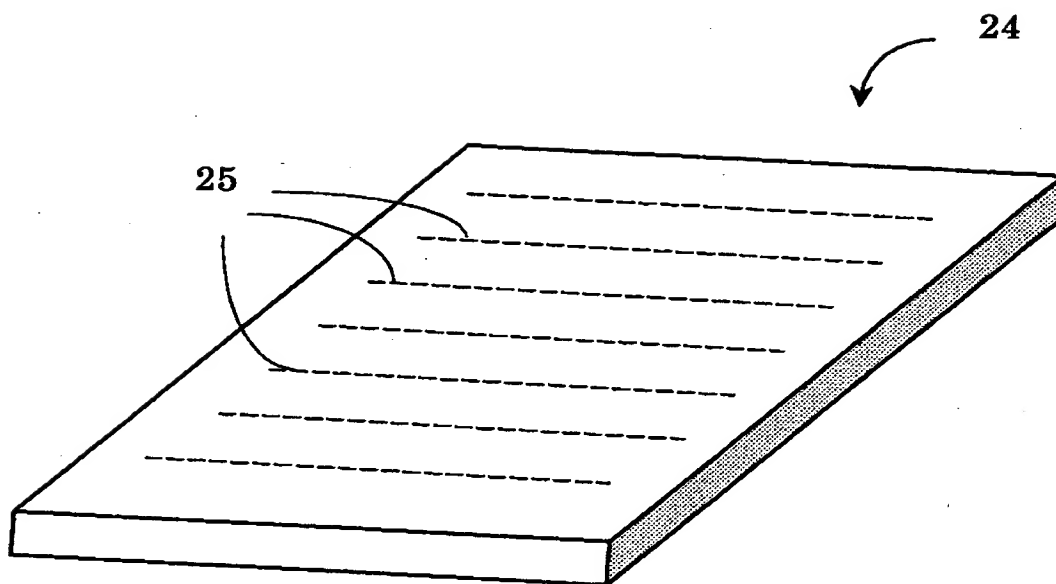
【図 1】



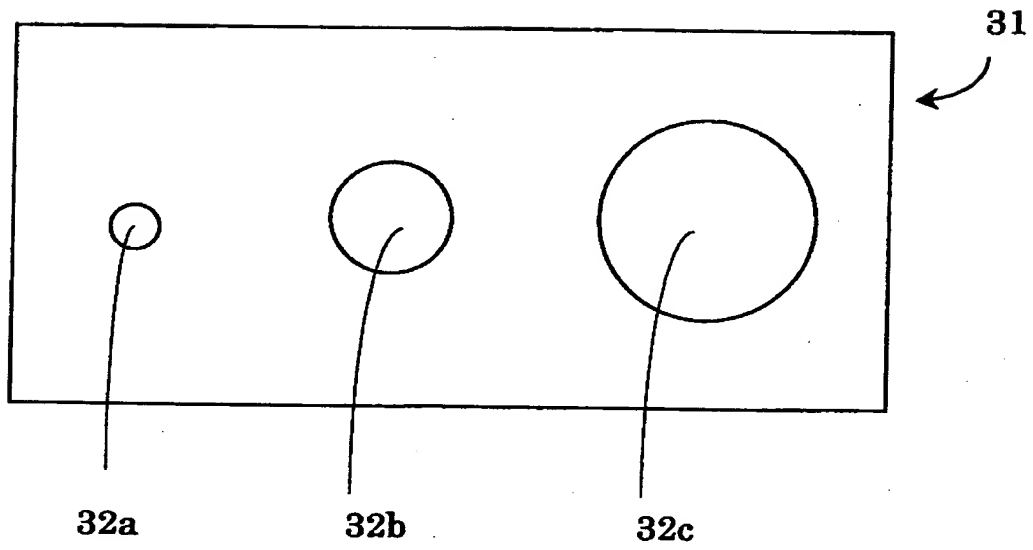
【図 2】



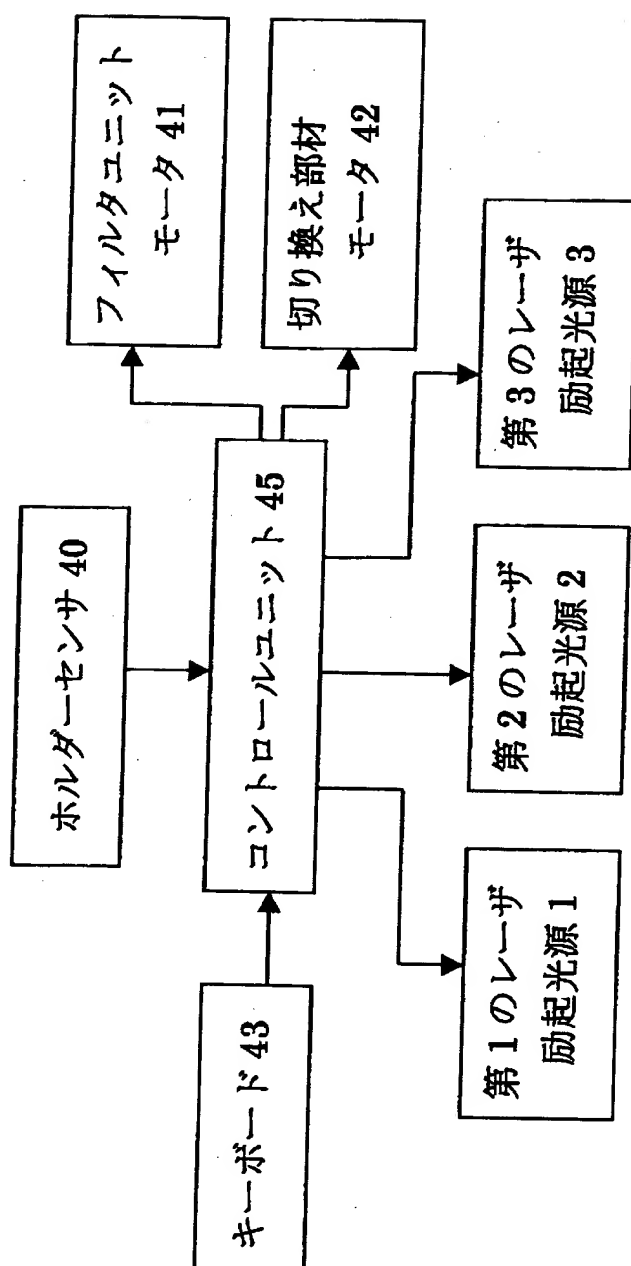
【図3】



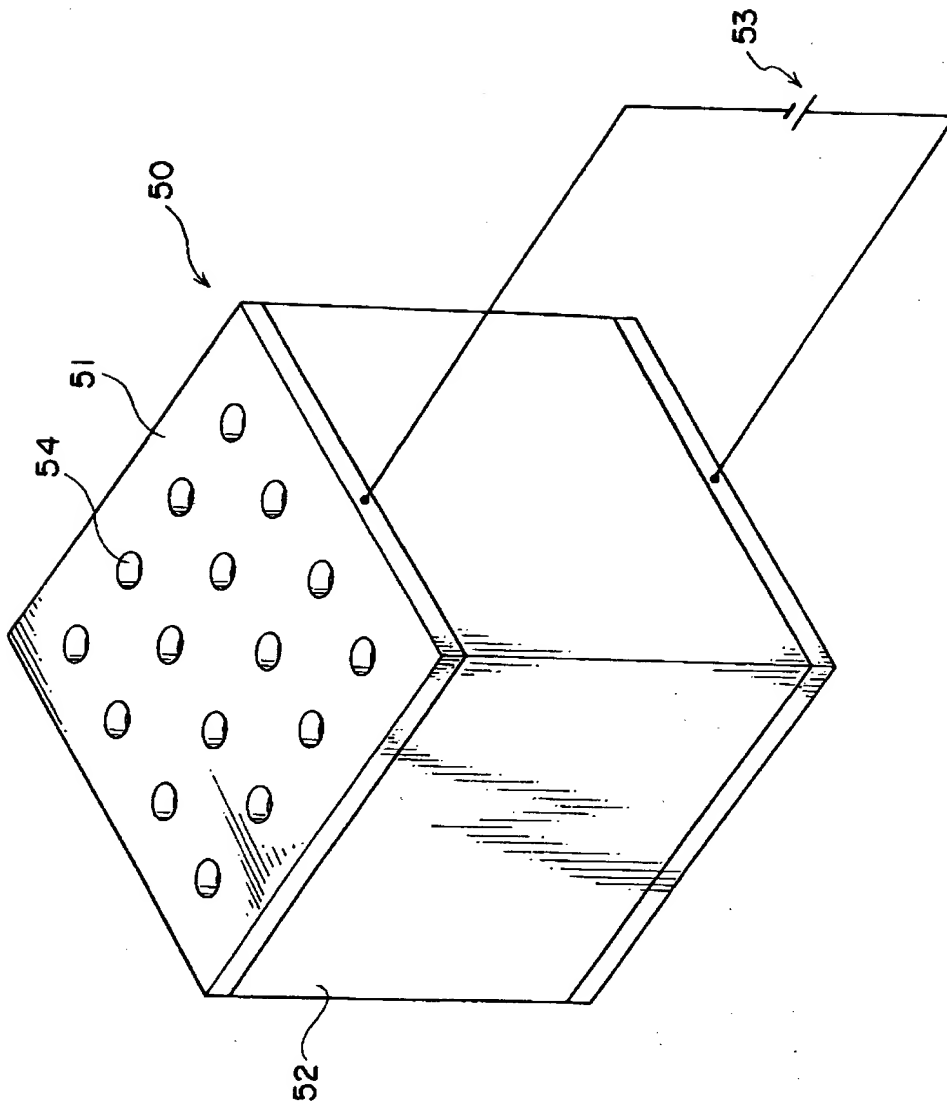
【図 4】



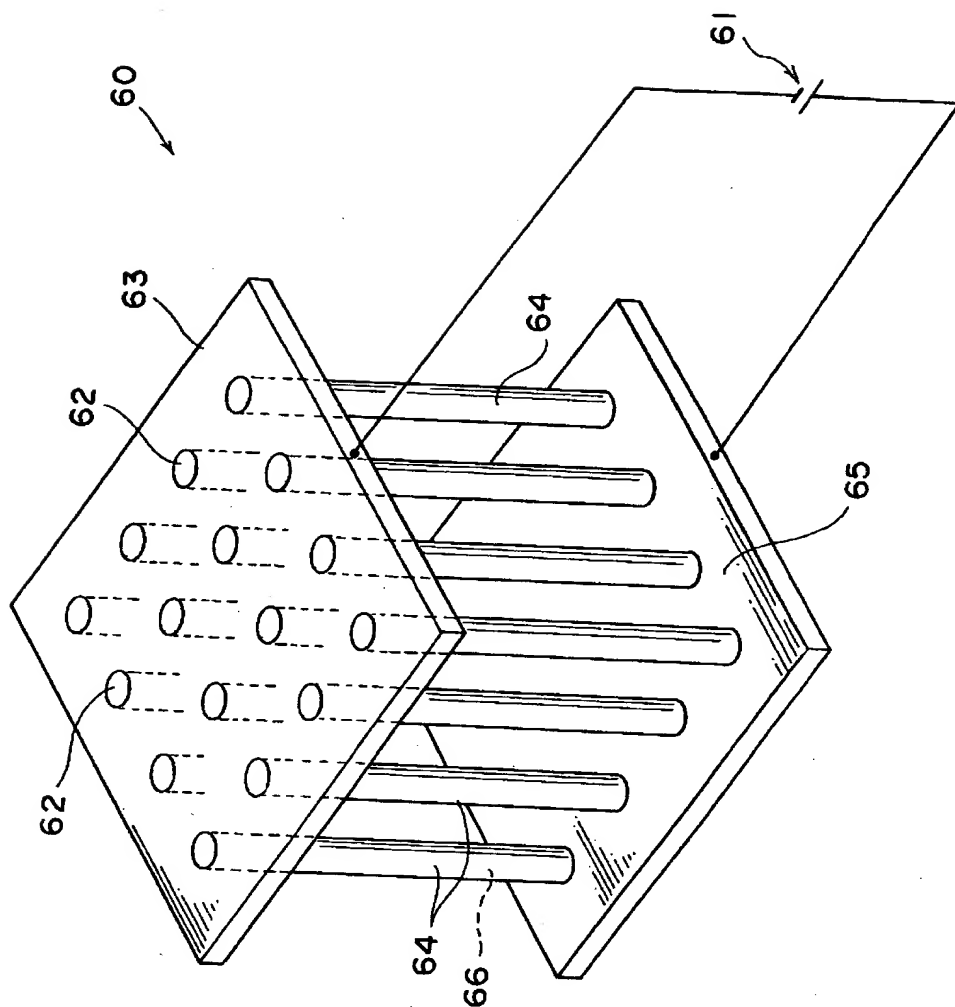
【図5】



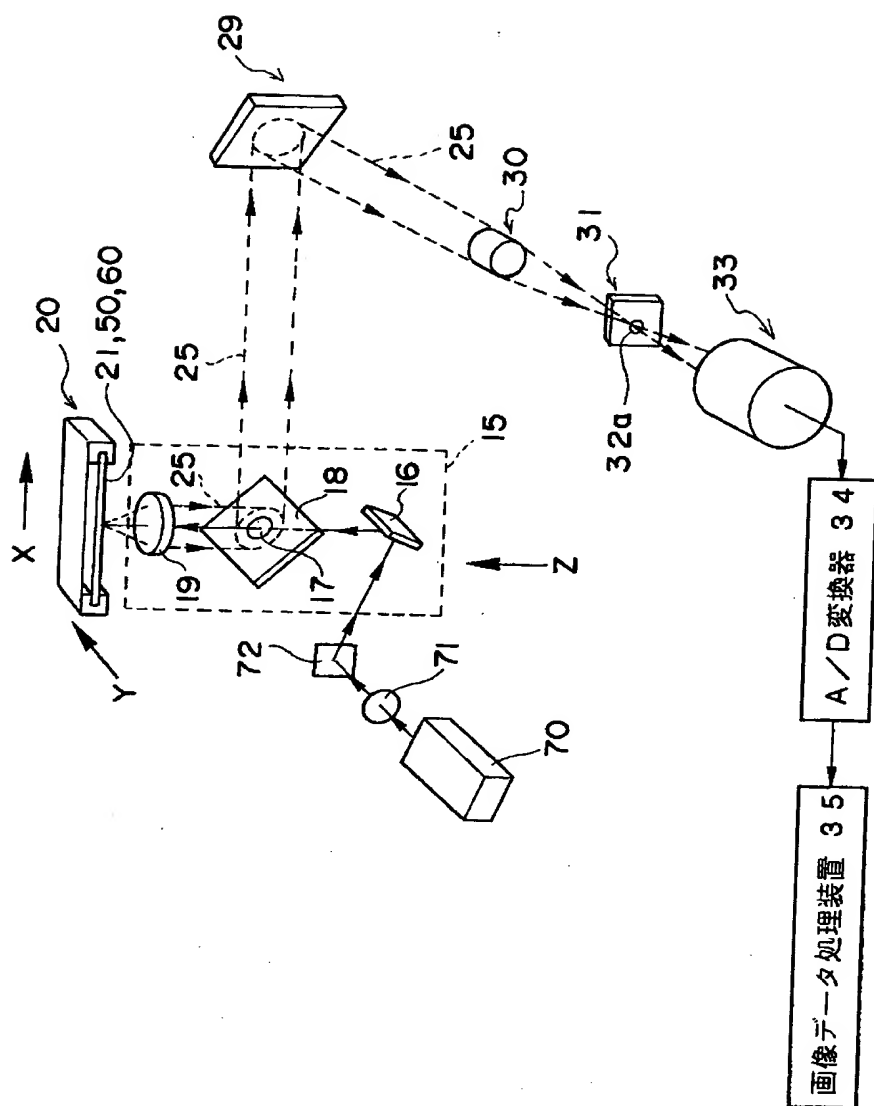
【図 6】



【図 7】



【図 8】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 プローブを基体上に固定し、ハイブリダイゼーションを利用して、基体上に固定されたプローブにターゲットを結合させて、ターゲットを検出し、定量的に解析をする場合に、構造の類似性などに起因して、目的とするターゲットに加えて、あるいは、これに代えて、目的とするターゲット以外の物質がプローブに結合した場合にも、確実に、ターゲット以外の物質を分離して、目的とするターゲットのみを検出して、精度良く、定量的に解析することができる生化学解析方法を提供する。

【解決手段】 あらかじめ選択されたプローブを基板上に固定するステップと、ハイブリダイゼーションまたは抗原抗体反応を利用して、プローブにターゲットを結合させて、捕捉させるステップと、捕捉されたターゲットを電気泳動によって分画するステップと、分画されたターゲットを検出するステップと、検出したターゲットを定量解析するステップとを備えた生化学解析方法。

【選択図】 図 2

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000005201]

1. 変更年月日 1990年 8月14日
[変更理由] 新規登録
住 所 神奈川県南足柄市中沼210番地
氏 名 富士写真フイルム株式会社